

Ministère de l'Education

République du Mali
Un Peuple Un But Une Foi

UNIVERSITE DU MALI

Direction Nationale de l'Enseignement Supérieur

Année: 2001

N° *22*

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

TITRE :

CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE

***Spilanthes oleracea* Jacq (Asteraceae)**

THESE :

*Présentée et soutenue publiquement le
devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie*

Par

MARIAM BOGOUM épouse LANDOURE

Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie

DIPLOME D'ETAT

JURY :

Président :	Professeur	AMADOU DIALLO
Membres :	Docteur	MAMOUTOU S. TRAORE
	Docteur	ENE A. ARAMA
Directeur de thèse :	Feu Professeur	AROUNA KEITA
Co-directeur de thèse:	Docteur	DRISSA DIALLO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ONDOTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 1999 - 2000

ADMINISTRATION

DOYEN : Moussa TRAORE, Professeur
1^{er} ASSESSEUR : Arouna KEITA, Maître de Conférences Agrégé
2^{ème} ASSESSEUR : Alhousseyni Ag MOHAMED, Maître de Conférences Agrégé
SECRETAIRE PRINCIPAL : Yénimégué Albert DEMBELE, Maître de Conférences
AGENT COMPTABLE : Yéhiya Himine MAIGA, Contrôleur du Trésor.

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou 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 DEMBELE	Chirurgie Générale
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 OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynécologie-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseyni Ag MOHAMED	O.R.L, Chef de D.E.R
Mr Abdoulaye K. DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW	Gynécologie-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynécologie-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynécologie-Obstétrique
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Mamadou TRAORE	Gynécologie-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie-Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme KONIPO Fanta TOGOLA	ORL
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie-Traumatologie
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Yéya T. TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie, Chef de D.E.R.
Mr Moussa HARAMA	Chimie organique
Mr Mamadou KONE	Physiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yénimégué A. DEMBELE	Chimie Organique
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie Médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie-Biologie animale
Mr N'yénigüe Simon KOITA	Chimie Organique
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Amadou TOURE	Histo-embryologie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Physiologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

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

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Physiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Sominta KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUES

Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-Entérologie
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Deydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Diankiné KAYENTAO	Pneumologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Mamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie

D E R DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
--------------------------	-------------

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA	Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassim HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie, Chef de D.E.R

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO	Matière Médicale
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

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

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA	Santé Publique
--------------------	----------------

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Yanick JAFFRE	Anthropologie
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bakary I. SACKO	Biochimie
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du milieu
Mr Nyamanto DIARRA	Mathématiques
Mr Mamadou Bocary DIARRA	Cardiologie
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. A.E. YAPO (Côte d'Ivoire)	Biochimie
Pr. M. L. SOW	Médecine Légale
Pr. D. BA (Sénégal)	Bromatologie
Pr. M. BADIANE (Sénégal)	Pharmacie Chimique
Pr. B. FAYE (Sénégal)	Pharmacodynamie
Pr. Eric PICHARD (France)	Pathologie Infectieuse
Pr. G. FARNARIER (France)	Physiologie

DEDICACES

Je dédie ce travail à Dieu, le Clément et Miséricordieux, pour Sa grâce.

Puisse Allah le Tout-Puissant guider mes pas dans Sa lumière divine.

Amen.

REMERCIEMENTS

- A Papa,

Ce travail est le fruit de tous tes sacrifices. Ton amour et ton affection ne m'ont jamais fait défaut. Puisse Allah le Tout-Puissant te donner longue vie à nos côtés. Amen.

En témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

- A Maman,

Ton infinie tendresse ne m'a jamais fait défaut. Je dois ma réussite à ton courage et à tes sacrifices. Je me souviendrai toujours de toi éprouvant tant d'angoisse à la veille de toutes mes épreuves scolaires. Sois heureuse en ce jour où une de tes filles te fait connaître la joie et la paix du cœur. Les mots me manquent pour t'exprimer toute mon affection et tout mon amour.

- A mon mari,

Tes sages conseils m'ont toujours réconfortée. Ton affection et ton amour m'ont toujours rassurée. Sois assuré de ma profonde gratitude.

- A mes amours Seydou et Gouro Landouré,

Vous représentez le plus beau cadeau de ma vie. Votre présence est un soutien inestimable. Puisse Allah le Tout-Puissant vous accorder longue vie. Très affectueusement à vous.

- A toute la famille Bocoum,

- A mes oncles,

- A mes tantes,

Pour votre soutien permanent et vos sages conseils.

- A mes frères et sœurs,

- A mes cousins et cousines,

Recevez ce travail, en signe de mon affection.

- Au Professeur Amadou Diallo

Les mots me manquent pour vous remercier. Vous avez été pour moi, durant toute ma formation universitaire, tout ce qu'un père doit être pour sa fille. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

- Au Docteur Mamadou Yatassaye,

Homme exceptionnel, vous n'avez jamais cessé de me témoigner votre affection et votre estime. Votre soutien moral m'a fortement marquée. Soyez assuré de toute ma reconnaissance.

- Au Docteur Hamadoun Sango,

Sois assuré de ma profonde gratitude pour ton soutien moral et pour ton estime de toujours.

- A ma tante chérie Kadidia Founé Bocoum,

Femme exceptionnelle, ton amour, ton affection et ton soutien matériel pour la réalisation de ce document m'ont été d'une aide inestimable et méritent une mention spéciale. En témoignage de ma reconnaissance et de mon affection.

- A mon oncle Sidiki Bocoum,

Votre soutien moral m'a beaucoup aidé pour la réalisation de ce travail. Soyez assuré de ma réelle reconnaissance.

- A tous mes camarades de promotion avec lesquels j'ai partagé tant de choses,

Merci pour votre sincère et fraternelle amitié.

- Aux Docteurs Drissa Diallo, Ené Augustin Arama et Ababacar Maïga,

Merci pour votre disponibilité et pour vos conseils.

- A tout le personnel du Département Médecine Traditionnelle,

Ce travail est aussi le vôtre. Nous vous prions d'accepter nos vifs remerciements pour la qualité de l'encadrement reçu et pour votre entière disponibilité.

- A la Direction et au corps professoral de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Pour tous les efforts consentis et la qualité de l'enseignement reçu.

- A tous ceux qui de loin ou de près ont bien voulu, par leur disponibilité, contribuer positivement à la réalisation de ce travail.

**REMERCIEMENTS AUX
MEMBRES DU JURY**

A notre Maître et Président du Jury : le Professeur Arouna Keïta

Professeur de Pharmacognosie,
Premier Assesseur de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie de l'Université du Mali,
Chef du Département Médecine Traditionnelle,

Honorable Maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury, malgré votre état de santé.

Vos qualités pédagogiques et votre immense culture, nous laisseront le souvenir d'un grand maître.

Recevez ici, Maître, l'expression de notre reconnaissance et de notre plus grand respect.

A notre Maître et Juge : le Docteur Ené Augustin Arama

Docteur en Technologie Pharmaceutique et Biopharmaceutique,
Inspecteur de la Santé et de l'Action Sociale,

C'est une réelle satisfaction pour nous de vous compter parmi les membres de ce Jury. Vos qualités humaines et votre disponibilité font de vous un homme respecté. Votre simplicité est admirable.

Acceptez nos remerciements les plus sincères.

A notre Maître et Juge : le Docteur Mamoutou Seydou Traoré

Maître de Conférences de Biologie Végétale,
Professeur à l'IPR/IFRA de Katibougou,

Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Nous apprécions la qualité des relations de collaboration que vous avez permis d'instaurer entre le Département Médecine Traditionnelle et l'Institut Polytechnique Rural de Katibougou, pour ce qui concerne la culture des espèces médicinales, *Spilanthes oleracea* Jacq. en particulier.

Recevez ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

A notre Maître et Directeur de Thèse : le Docteur Rokia Sanogo

Docteur en Pharmacie,
PhD en Pharmacognosie,

Votre constante disponibilité, l'amabilité avec laquelle vous nous avez toujours reçue et vos conseils judicieux nous ont séduit.

Loin de toute flatterie, nous avons noté les grandes qualités que sont le courage et la rigueur dans le travail que vous incarnez, dans le souci de toujours mieux faire. Votre appui moral ne nous a à aucun moment fait défaut.

Soyez assurée de notre sympathie et de notre attachement

**LISTE DES ABREVIATIONS ET
SIGLES**

- μl : Microlitre
- AlCl_3 : Chlorure d'aluminium
- CCM : Chromatographie sur Couche Mince
- CHCl_3 : Chloroforme
- DDT : Dichloro Diphényl Trichloro éthane
- DMT : Département de Médecine Traditionnelle
- Et_2O : Ether éthylique
- EtOH : Ethanol
- FeCl_3 : Chlorure ferrique
- H_2SO_4 : Acide sulfurique
- HCl : Acide chlorhydrique
- INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
- IR : Infrarouge
- KOH : Potasse
- MTA : Médicament Traditionnel Amélioré
- NH_4OH : Ammoniaque
- Nm : Nanomètre
- OMS / WHO : Organisation Mondiale de la Santé / World Health Organisation
- PE : Prise d'Essai
- RFA : République Fédérale d'Allemagne
- SbCl_3 : Chlorure d'antimoine
- UV : Ultraviolet
- V-V : Volume pour Volume
- X : Moyenne des pourcentages

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	2
OBJECTIFS DE LA RECHERCHE	4
LA PLANTE: <i>SPILANTHES OLERACEA</i> Jacq	6
Données botaniques et distribution géographique	7
Utilisations thérapeutiques de <i>Spilanthes</i>	12
Chimie de <i>Spilanthes oleracea</i> Jacq	16
TRAVAUX ANTERIEURS	18
Etudes agronomiques	19
Etudes chimiques	19
Etudes pharmacologiques	20
TRAVAUX PERSONNELS	25
Matériel et Méthodes	26
Résultats	45
COMMENTAIRES ET DISCUSSION	54
CONCLUSION	58
BIBLIOGRAPHIE	60
ANNEXES	64

INTRODUCTION

Au Mali, comme dans la plupart des pays en développement, près de 80% de la population a recours aux ressources de la médecine traditionnelle pour se soigner (1). Cette médecine est la plus accessible en termes économiques, géographiques et culturels.

Depuis 1978, l'OMS a pris des dispositions pour une évaluation approfondie de l'efficacité des ressources de la médecine traditionnelle afin de faire face aux problèmes de santé de la majorité des populations des pays en voie de développement (29). Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT), Centre Collaborateur de l'OMS, travaille depuis des années à la valorisation des ressources de la médecine traditionnelle au Mali, à la mise au point et à la production de Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) à partir des recettes des thérapeutes traditionnels. Ces recherches scientifiques sont menées en vue de mieux exploiter les connaissances pharmacologiques du système traditionnel de soins dans le traitement des pathologies les plus fréquentes, comme le paludisme (**Annexe 1**). Actuellement, sept (7) MTA, fruits des recherches du DMT, figurent dans le Formulaire Thérapeutique National du Ministère de la Santé du Mali. Parmi ces MTA, le **Malarial 5** est utilisé pour le traitement du paludisme qui, actuellement, malgré les efforts déployés par l'OMS, demeure la première endémie mondiale, occasionnant plus de 2.000.000 de décès par an (28). C'est ainsi que le paludisme reste encore aujourd'hui une priorité, non seulement de l'OMS, mais de tous les pays victimes de cette endémie.

La déclaration d'Abuja, adoptée en 2000 par 53 pays africains (**Annexe 2**), dont le Mali, a amené le Ministère de la Santé de notre pays à organiser un Atelier National de Restitution des résultats de cette rencontre, afin de renforcer la stratégie nationale de lutte antipaludique et d'appliquer les objectifs retenus à Abuja. C'est dans ce cadre que le DMT continue de travailler à la formulation de nouveaux médicaments antipaludiques à base de plantes et à l'amélioration du **Malarial 5**.

Le *Spilanthes oleracea* Jacq entre dans la composition du **Malarial 5**. Il a été extrait de cette plante un principe actif, le **Spilanthol**, qui possède des propriétés schizonticides. On le trouve dans les capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq. Après avoir exposé les objectifs de notre recherche, nous allons effectuer une revue de la littérature concernant cette plante, afin de répertorier les informations botaniques, chimiques pharmacologiques et les utilisations en Médecine Traditionnelle de *Spilanthes oleracea* Jacq. Les résultats de nos travaux personnels, consacrés à l'étude phytochimique de la plante, de même que nos commentaires et notre conclusion cloront ce travail.

OBJECTIFS DE LA RECHERCHE

a) Objectif général

Effectuer une étude chimique des capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq.

b) Objectifs spécifiques

1. Effectuer le dosage d'extraits des capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq. riches en principes actifs schizonticides ;
2. Proposer un Contrôle de Qualité de l'extrait riche en principes actifs par la chromatographie par couche mince.

LA PLANTE :
SPILANTHES OLERACEA
JACQ

I. DONNEES BOTANIQUES ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

A. Synonymes

Le nom de *Spilanthes*, donné au genre que nous étudions, possède six synonymes répertoriés (12):

Acmella Rich.
Athronia Neck.
Ceruchis Gaertn.
Mendezia DC.
Pyrethrum Medic.
Spilanthus Linn.

Le genre *Spilanthes* regroupe 35 espèces tropicales, réparties sur 3 continents: Asie, Afrique et Amérique. De nombreux auteurs ont décrit cette plante sous différents noms, ce qui explique la présence de nombreux synonymes dans la littérature :

<i>S. africana</i> DC	<i>S. arranaya</i> Gardn
<i>S. brasiliensis</i> Spreng	<i>S. calva</i> DC
<i>S. caulirhiza</i> DC	<i>S. costata</i> Benth
<i>S. debilis</i> H. B. & K. Nov.	<i>S. fusca</i> Hort
<i>S. grandiflora</i> Turcz	<i>S. lobata</i> Blanco
<i>S. lundii</i> DC	<i>S. macroglossa</i> F. Muell.
<i>S. mariannae</i> DC	<i>S. mauritania</i> DC
<i>S. melampodioides</i> Gardn	<i>S. melissaeflora</i> Salib
<i>S. oleracea</i> Linn	<i>S. Paniculata</i> Wall
<i>S. peregrina</i> Blanco	<i>S. pseudoacmella</i> Murr
<i>S. salzmanni</i> DC	<i>S. tenella</i> H. B. & K. Nov
<i>S. uliginosa</i> SW.	

B. Nom local

Nom Bambara : Farimani

C. Habitat et distribution géographique

Spilanthes oleracea se rencontre dans les zones chaudes et humides des deux hémisphères.

Il semblerait que, selon le continent où se rencontre la plante, une des trois dénominations suivantes soit préférentiellement utilisée :

- *Spilanthes acmella* **Murr** en Asie: Inde, Indochine, Philippines
- *Spilanthes uliginosa* **SW.** en Afrique: Mali, Soudan, Niger, Cameroun
- *Spilanthes oleracea* **Linn** en Amérique du Sud: Brésil, Pérou, Chili.

Cette grande diversité de noms serait imputable aux nombreuses localisations de l'espèce, mais aussi à quelques variations morphologiques de la plante (différences de taille et de couleur des organes). De plus, on distingue à l'intérieur de l'espèce des races chimiques : ainsi *S. mauritania* **DC** ne contient pas de Spilanthol, mais une isobutylamide voisine (25).

D. Position dans la systématique

Le genre *Spilanthes* occupe la position suivante dans la systématique des plantes supérieures :

- Embranchement	Spermaphytes
- Sous-embranchement	Angiospermes
- Classe	Dicotylédones
- Sous – classe	Gamopétales
- Ordre	Synanthérales
- Famille	Astéracées
- Tribu	Hélianthées
- Sous-tribu	Ecliptinées
- Genre	Spilanthes
- Espèce	oleracea

E. Description

1. Appareil végétatif

Le *Spilanthes* est une plante herbacée annuelle (**Photo N°1**). La tige est cylindrique et pubescente. Elle peut parfois s'enraciner au niveau des nœuds les plus bas, puis secondairement se dresser. Les feuilles sont simples, glabres, opposées, triangulaires et parfois dentées.

2. Appareil reproducteur

a. L'inflorescence

De longs pédoncules axillaires ou terminaux portent les capitules polygames et radiés ou homogames et disciformes. L'involucre est court, ovoïde ou campanulé. Les bractées sur deux cercles sont légèrement inégales. Le réceptacle est convexe et allongé. Les paillettes rabattues se resserrent autour de la base des fleurs hermaphrodites enfermant ainsi leur ovaire.

b. La fleur

En règle générale, les fleurs de la périphérie, femelles, sont fertiles et disposées sur un seul rayon. La corolle est ligulée, les ligules sont courtes, blanches ou jaunes et ont tendance à s'étaler. Les fleurs du disque (fleurs centrales) sont hermaphrodites. La corolle est régulière et tubulée. Le bord est élargi ou finement denté (4 ou 5 dents). La base de l'anthere est soit tronquée, soit entière ou plus rarement dentée (2 dents). Les branches du style des fleurs hermaphrodites sont tronquées. Le pappus est souvent absent. S'il existe, il est réduit à deux ou trois soies. Les akènes des fleurs périphériques sont triangulaires ou dorsalement comprimés. Ceux des fleurs du disque sont latéralement comprimés et habituellement ciliés aux bords et aux angles.



Photo N°1: *Spilanthes oleracea* Jacq

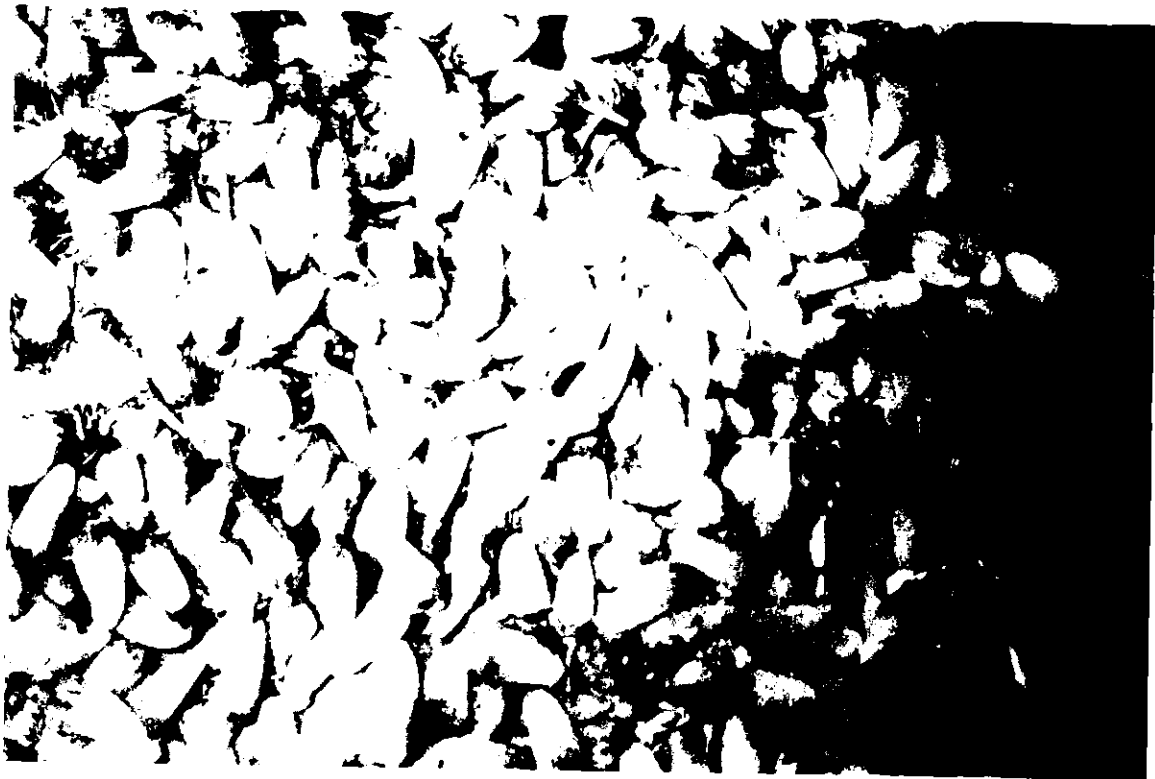


Photo N°2: Capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq

II. UTILISATIONS THERAPEUTIQUES DE *SPILANTHES*

Utilisations en Médecine Traditionnelle

Le *Spilanthes* est largement utilisé en Afrique, Asie et Amérique du Sud pour ses propriétés odontalgiques, hémostatiques et cicatrisantes. Le **Tableau N°1** récapitule les diverses utilisations de *Spilanthes* sur ces continents (25).

Le *Spilanthes* n'est pas une plante très connue dans le milieu médical traditionnel du Mali. Cependant le Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique du Mali a exploité les propriétés anesthésiques locales de la plante dans une recette qui était utilisée en odontostomatologie (Potion SUMUFARI) pour les algies dentaires. Le Département a aussi démontré l'activité schizonticide de l'extrait aqueux des capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq sur *Plasmodium falciparum*.

Ailleurs, comme en Allemagne, la plante a été étudiée pour ses propriétés antifongiques et antibactériennes (25).

On la retrouve aussi dans certaines herboristeries américaines où elle est vendue pour ses multiples propriétés : odontalgique, antifongique, antivirale.

Même si le genre *Spilanthes* ne semble pas très bien connu dans le milieu médical "classique" occidental, *Spilanthes oleracea* Jacq et la variété *acmella* sont inscrites à plusieurs pharmacopées européennes et sud-américaines (11).

Spilanthes oleracea dans les Pharmacopées

La fleur est inscrite à la 1^{ère} édition de la pharmacopée brésilienne, aux 1^{ère}, 3^{ème} et 4^{ème} éditions de la pharmacopée française et reprise dans la table alphabétique révisée des drogues végétales de la 9^{ème} édition (1972).

La feuille fait partie de la 1^{ère} édition de la pharmacopée brésilienne et des 1^{ère}, 3^{ème}, 4^{ème} et 9^{ème} éditions de la pharmacopée française.

La plante fleurie fait partie de la 5^{ème} et 7^{ème} éditions de la pharmacopée autrichienne, de la 1^{ère} édition de la pharmacopée allemande, de la 2^{ème} édition de la pharmacopée suisse, de la 1^{ère} édition de la pharmacopée hongroise, de la 3^{ème} édition de la pharmacopée portugaise,

de la 1^{ère} édition de la pharmacopée roumaine, de la 2^{ème} édition de la pharmacopée serbe et de la 1^{ère} édition de la pharmacopée vénézuélienne.

Dorvault (6) rapporte les propriétés sialagogue, antiscorbutique et odontalgique de la teinture de *Spilanthus oleracea* Jacq (Cresson de Para) composée de :

	Feuilles de Cresson de Para (<i>Spilanthus</i>)	40g
Formule 1	Feuilles d' <i>Inula bifrons</i>	10 g
	Pyrèthre	16 g
	Alcool 86°	80 g

Faire macérer 15 jours dans l'alcool les substances citées incisées, presser et filtrer.

	Cresson de Para (<i>Spilanthus</i>)	200g
Formule 2	Pyrèthre	100 g
	Alcool 90°	400 g

Faire macérer 3 jours et filtrer.

Ces préparations, appelées Paraguay Roux, destinées à calmer les maux de dents, sont utilisées de la manière suivante : un morceau de coton ou d'amadou imbibé de la solution est introduit dans la dent cariée. On peut également ajouter quelques gouttes de teinture à un verre d'eau afin de l'utiliser en bains de bouche.

Par ailleurs, deux dentifrices élaborés au Japon, ont obtenu en 1985 des brevets :

- Un dentifrice abrasif contenant de la silice et du Spilanthol (3).
- Un autre renfermant du Spilanthol et des épices (2).

En Europe, les utilisations de *Spilanthus oleracea* Jacq ou du Spilanthol dans l'élaboration de médicaments sont quasi inexistantes.

Seule l'Allemagne commercialise une spécialité, SPOLERA®, préparée à partir d'un extrait obtenu après traitement à l'isopropanol de la plante entière séchée.

Ce médicament est indiqué pour calmer les piqûres d'insectes ainsi que les accidents sportifs (entorse, foulure...) (26). En France, en septembre 1986, deux spécialités répondant à la même dénomination ont fait l'objet d'une autorisation de mise sur le marché (25).

Tableau I : Différentes utilisations de *Spilanthes* à travers les continents

ORGANE DE PLANTE	MODE D'ADMINISTRATION	UTILISATIONS	LIEU
Capitules seuls	Mastication	Calmes les maux de dent (la mastication provoque des picotements et un engourdissement de la bouche qui disparaissent au bout de 20 min, sans que la douleur ne réapparaisse). Provoque une légère anesthésie lors de l'arrachage d'une dent. Propriétés de tonique digestif (provoque une hyper salivation).	Asie (Inde) Afrique
	Infusion	Traitement du paludisme.	Afrique (Mali)
	Mâchés puis appliqués en cataplasme Poudre humide	Favorise la cicatrisation des plaies (lors de la circoncision par exemple). Traite les inflammations buccales (lèvres et gencives).	Afrique de l'Ouest Afrique
Feuilles seules	Décocction	Lotion contre les rhumatismes. Effet diurétique et antilithiasique	Asie (Philippines)
	Friction	Calmes les éruptions prurigineuses.	Asie (Inde)
Racines seules	Décocction	Entre dans la composition de collutoires proposés dans le traitement des maux de gorge. Lotion contre la gale et le psoriasis. Effet purgatif.	Afrique
	Mastication	Propriété antiscorbutique (la plante est riche en vitamine C). Effet vermifuge (contre oxyuroses et ascarioses). Contre la dysenterie	Asie (Philippines)
Feuilles et capitules		Propriété antiscorbutique (la plante est riche en vitamine C).	Afrique (Madagascar)
		Effet vermifuge (contre oxyuroses et ascarioses).	Afrique (Madagascar)
		Contre la dysenterie Propriétés fébrifuges.	Afrique, Asie (Indochine) Afrique
Plante entière	Décocction	Calmes les douleurs de l'accouchement. Traitement des cystites, néphrites, leucorrhées et aménorrhées. Contre le bégaïement.	Asie (Inde)
	Friction	Contre les morsures de serpents La plante entre dans la composition d'un dentifrice.	Afrique (Cameroun) Amérique du Sud Afrique (Madagascar)
Spilanthol	Extrait éthéré	Propriétés piscicides et insecticides.	Asie (Inde)

III. CHIMIE DE *SPILANTHES OLERACEA* JACQ

Les premiers travaux sur *Spilanthes oleracea* Jacq et ses dérivés ont été publiés par un chercheur allemand, E. Gerber, au début du 19^e siècle. Il a isolé de la plante un principe âcre auquel il a donné le nom de Spilanthol. Par la suite, plusieurs équipes de scientifiques s'intéressant à ses travaux ont pu isoler certains composés des capitules de *Spilanthes* (14). Parmi ces composés nous pouvons citer entre autres :

Des Substances Minérales

Nitrate de Potassium

Petites quantités de Calcium, de Magnésium

Traces de Fer.

B.V. Bhide et V.G. Gokhale (8) ont obtenu par ailleurs des résultats positifs lors de la recherche de phosphates, chlorures et sulfates.

Des Amides

Le Spilanthol

2-Méthylbutyl (2E, 6Z, 8E) déca – 2,6,8 triénamide ; Isobutyl (z) Non-2-
èn-6,8-diynamide Isobutyl (z) déc-2-én-6,8-diynamide.

(2E, 4E, 8E, 10Z) N-Isobutyl dodéca-2,4,8,10 tétraénamide de
Spilanthes mauritania.

Des Flavonoïdes

La quercétine-3-glucoside

La quercétine-3-rhamnoglucoside

L'apigénine-7-glucoside

L'apigénine-7-néohespéridoside

Des Stérols et Triterpènes

Stigmastérol

α amyrine

β amyrine

β sitostérol

D glucoside de β sitostérol

Des Saponosides

Le Spilanthol

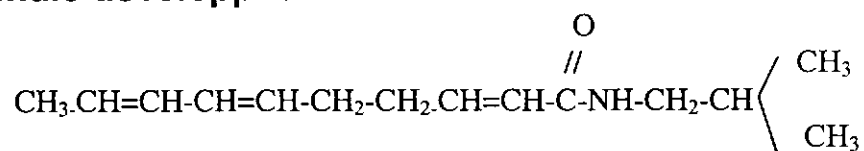
Le spilanthol brut est un principe actif qui agit sur le parasite responsable du paludisme.

Caractéristiques du Spilanthol

Généralités

Couleur : Verdâtre
Goût : Acre, piquant
Formule brute : $C_{14}H_{23}NO$
Masse molaire : 221g/mol
Nom : N-isobutyl-deca-2,6,8-triènamide

Formule développée :



Constantes physiques

Point d'ébullition : 165°C
Point de fusion : 23°C

Caractéristiques spectrales

U.V. λ_{max} . (nm) : 228,5 ($\epsilon = 34\ 000$)
I.R. (cm⁻¹) : 948-982
M.S. (m/Q) : 81

TRAVAUX ANTERIEURS

I. Etudes agronomiques

Des études agronomiques sur *Spilanthus oleracea* ont été réalisées à l'IPR de Katibougou pour connaître les meilleures conditions de culture et le temps balsamique pour la récolte des capitules de la plante (19). Des dosages ont été effectués sur des capitules récoltés à différentes périodes. C'est ainsi qu'on a pu constater que les capitules de la première et de la deuxième récoltes ont une bonne teneur en substances extractibles par l'éther riches en Spilanthol (19). Ces recherches avaient également pour objectif d'obtenir un rendement optimal en plante et en capitules.

II. Etudes chimiques

Le spilanthol a été isolé pour la première fois en 1903 par un chercheur allemand, E. Gerber, à partir de sommités fleuries de *Spilanthus oleracea* Jacq. Par la suite, plusieurs équipes de chercheurs ont étudié la structure et la technique d'extraction du spilanthol (25).

Dans les années 30, M. Asano et Y. Kanematsu revendiquent l'extraction du spilanthol pur à partir de capitules de *Spilanthus oleracea* Jacq et de *Spilanthus acmella* variété *fusca*. Le spilanthol est identifié sous la forme d'une huile jaune pâle, âcre, bouillant à 165° C, dont la formule brute est $C_{14}H_{23}NO$ (25).

En 1945, B.V. Bhide et V.G Gokhale s'intéressent à la variété indienne de *Spilanthus acmella* et isolent un principe âcre, à partir des capitules séchés, qu'ils identifient au spilanthol (8).

En 1957, M. Jacobson publie les résultats de ses recherches et établit avec certitude les caractéristiques du spilanthol qu'il a extrait des capitules de *Spilanthus oleracea* (14).

Au niveau du DMT, à part les essais phytochimiques préliminaires, les travaux précédents ont seulement permis d'obtenir des extraits riches en principes actifs, comme le Spilanthol.

La percolation à froid des capitules broyés (7 g) par l'éther diéthylique permet d'obtenir un extrait éthéré (une masse verdâtre, visqueuse, au goût âcre). Cette masse est reprise avec une solution hydroalcoolique (40% eau distillée – 60% éthanol), puis concentrée pour éliminer l'alcool. La phase aqueuse résiduelle est reprise par l'hexane. La concentration de l'extrait hexanique au Rotavapor permet l'obtention d'une huile jaune pâle. Le produit ainsi obtenu, estimé à 0,77g, soit 11% de drogue sèche, contiendrait du spilanthol (16).

III. Etudes pharmacologiques

Le *Spilanthus oleracea* Jacq est utilisé pour ses propriétés insecticides par les populations locales.

Par ailleurs, bon nombre d'Astéracées, présentant des composés insaturés et ayant des propriétés sialagogues, possèdent un pouvoir insecticide. Des études pharmacologiques ont été entreprises dans ce domaine. Parallèlement, des recherches sont menées pour la mise en évidence d'une activité molluscicide.

Ces deux propriétés, si elles sont mises en pratique convenablement, peuvent être d'une utilité capitale, quand on sait que certains insectes et mollusques sont les vecteurs de maladies très graves dans les zones tropicales, où pousse *Spilanthus oleracea* Jacq.

En 1988, TREVISSON C. et son équipe, par des études expérimentales, ont prouvé que le Spilanthol possédait une activité insecticide et une activité molluscicide (25).

A) Activité insecticide

Après plusieurs travaux, l'équipe a constaté que le Spilanthol a un pouvoir insecticide proche de celui du DDT, avec un long délai d'action.

A une concentration de $4\text{mg}/\text{cm}^3$, le Spilanthol fait 10 morts chez les charançons du haricot au bout de 2 heures. Par contre, le DDT fait 10 morts à une concentration de $0,06\text{mg}/\text{cm}^3$ au bout d'une heure (25). La même équipe a mené des expérimentations sur la blatte américaine et la punaise de laitron. Elle a démontré qu'un extrait de la plante entière de *Spilanthus oleracea* paralyse à 100% les blattes américaines et les punaises de laitron en deux jours, mais ne provoque que 20% de mortalité en 4 jours.

Le pouvoir insecticide du Spilanthol semble dépendre de la stéréochimie de la molécule. Ainsi, le Spilanthol naturel (N-Isobutyldécatrans-2, cis-6,trans-8 triénamide) induit un taux de mortalité alors que la N-Isobutyl-déca-trans-2, trans-6, trans-8 triénamide est dénuée de toute activité. De même, le Spilanthol naturel est plus toxique envers *Tenebrio molitor* que la N-Isobutyldéca-trans-2, cis-6, trans-8 triénamide. Une toxicité comparable est obtenue envers le genre *Culex*, hôte intermédiaire des filaires.

Action sur la mouche domestique *Musca domestica* : La mouche domestique transporte des germes responsables de maladies infectieuses graves comme le trachome, la fièvre typhoïde, la tuberculose, la lèpre.

Une solution de Spilanthol, naturel ou synthétique, à une concentration de 2 mg/ml, induit la paralysie de tous les insectes en dix minutes. 26 % de mortalité sont obtenus en 24 heures.

Le Spilanthol est également toxique envers les larves d'insectes: dix larves de *Aedes aegypti* (vecteur de la fièvre jaune) sont introduites dans un bécher contenant 0,1 millilitre d'une des quatre solutions à tester dans l'acétone et 29,9 millilitres d'eau. L'activité larvicide des extraits aqueux, méthanolique et chloroformique de *Spilanthus oleracea* Jacq et de la N-Isobutyldodéca-trans-2, trans-4, trans-8, cis-10 tétraénamide sur *Aedes aegypti* est exprimée en pourcentage de mortalité. Les extraits méthanolique, chloroformique de *Spilanthus* et de la N-Isobutyldodéca-trans-2, trans-4, trans-8, cis-10 tétraénamide ont démontré une activité larvicide de 100%.

B) Activité molluscicide

TREVISSON C. et col (25) ont démontré que le Spilanthol a une activité cercaricide avec une $DL_{50} = 50\text{ppm}$. Pour une concentration de 250 mg/litre (solubilité maximum du principe actif dans l'eau) on note :

- L'immobilité des mollusques après 30 minutes ;
- L'absence d'émergence de cercaires ;
- Le fait que les cercaires placées dans les boîtes cessent de se mouvoir après 5 secondes et se convulsent après 1 minute.

L'expérience montre l'intérêt prophylactique du Spilanthol dans la lutte contre les bilharzioses, par son activité molluscicide avec une $DL_{50} = 50\text{ppm}$ ainsi que par son activité cercaricide. Cependant, des difficultés apparaissent quant à l'application de ces données en raison d'une toxicité élevée sur les poissons d'eau douce.

C) Activité antipaludéenne de *Spilanthus*

L'activité antipaludéenne de *Spilanthus* est très peu connue dans les pays occidentaux. En effet, ces derniers ne sont pas confrontés directement au problème du paludisme, ce qui explique qu'ils ne cherchent pas de façon systématique (hormis l'utilisation de la chloroquine) à lutter contre cette maladie.

Cependant, Richard A., (23) dans un article consacré au *Spilanthes*, publié en 1996 sur le site Internet de Horizon Herbs (Herboristerie de l'Oregon), cite les propriétés antipaludéennes du *Spilanthes*.

Il conseille même aux personnes qui vont séjourner en zone impaludée de se munir d'une bouteille d'infusion de *Spilanthes*, voire de cultiver la plante.

L'activité antipaludéenne du *Spilanthes* est donc reconnue au-delà des frontières maliennes et plusieurs études expérimentales sur cette activité sont rapportées dans la littérature scientifique.

L'action sur les larves *Anopheles* et *Culex* a été rapportée par Jacobson et Grosby (15) et par Watt et coll. (27): L'extrait éthéré des feuilles et des fleurs de *Spilanthes oleracea* Jacq est toxique envers les troisième et quatrième larves de *Anopheles quadrimaculatus* (responsable de la transmission du paludisme), quand il est testé dans un mélange alcool - savon. Par exemple, à une concentration de 1/10.000, il y a immobilisation en 5 minutes et mort au bout de 40 minutes. Une toxicité comparable est obtenue envers le genre *Culex*, hôte intermédiaire des filaires.

Au Mali, des études expérimentales sur l'activité antipaludéenne de *Spilanthes* ont été effectuées au DMT. Ses propriétés sont traditionnellement connues et reconnues. Le *Spilanthes oleracea* entre dans la composition d'un Médicament Traditionnel Amélioré antipaludéen : le Malarial 5.

LE MALARIAL

1. Historique de la formulation du Malarial 5

Les recherches pour l'élaboration d'un médicament à base de *Spilanthes oleracea* ont débuté dès le début des années 70. Elles ont abouti à la réalisation du Malarial 1, puis du Malarial 2 et enfin du Malarial 3. Tous trois étaient composés de *Mitragyna inermis*, *Lippia chevalieri* et *Spilanthes oleracea* et seules les proportions changeaient. A partir de 1980, le DMT remplace *Mitragyna inermis* par *Cassia occidentalis* et teste successivement le Malarial 4 et le Malarial 5. Ce dernier a été agréé au début des années 90 par le Conseil Scientifique de l'INRSP (17).

Actuellement, ce Médicament Traditionnel Amélioré est un mélange de poudres de feuilles de *Cassia occidentalis* (qui permet de faire tomber la fièvre), de *Lippia chevalieri* (qui donne un meilleur goût au médicament), récoltées en mai sur les aires de pousse naturelle, ainsi que de capitules de *Spilanthes oleracea* cultivé à l'IPR de Katibougou.

Ces capitules contiennent une molécule, le Spilanthol, efficace contre le *Plasmodium falciparum*, parasite responsable de la forme mortelle du paludisme. Les plantes sont séchées sous abri à la température ambiante puis broyées.

Les poudres obtenues sont mélangées selon les proportions suivantes :

<i>C.occidentalis</i> :	62 %
<i>L. chevalieri</i> :	32 %
<i>S. oleracea</i> :	6%

Le Malarial 5 est ensuite réparti en sachets de 10 g et vendu par paquet de 11 sachets, au prix de 600 F CFA au DMT et 850 FCFA dans les pharmacies. Il est consommé en décoction pendant les crises de paludisme, à raison d'une décoction matin et soir les quatre premiers jours, puis une décoction par jour les trois jours suivants.

2. Etudes expérimentales du Malarial 5

Deux études expérimentales ont été réalisées au DMT afin de déterminer l'efficacité du Malarial 5.

- En 1987, mise en place d'un essai clinique visant à comparer l'effet du Malarial 5 et de la chloroquine. Il a été conduit durant la saison humide, période de grande endémicité du paludisme. Les critères étudiés étaient à la fois cliniques (maux de tête, fièvre) et biologiques (parasitémie). Les résultats ont démontré une très faible action schizonticide du Malarial, sans aucune comparaison cependant avec l'action de la chloroquine. L'efficacité du Malarial est plus évidente en ce qui concerne des signes cliniques : les malades se sentent soulagés dès la 48^{ème} heure de traitement (18).
- En 1993, le Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Marseille a réalisé, en collaboration avec le DMT et l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Bamako, des expériences *in vitro* et *in vivo* destinées à mesurer l'efficacité du Malarial 5 avec les proportions suivantes:

<i>C.occidentalis</i> :	64 %
<i>L. chevalieri</i> :	32 %
<i>S. oleracea</i> :	4%

Ces expériences ont permis de montrer que l'activité antipaludéenne *in vitro* du Malarial 5 est similaire sur les souches de *Plasmodium falciparum* sensibles à la chloroquine et sur des souches résistantes.

Dans les conditions expérimentales *in vivo*, des souris infectées avec *Plasmodium berghei* et traitées par voie orale avec les différentes décoctions, ont présenté une évolution plus lente du taux parasitaire, ce qui s'est traduit par une survie de 2 à 3 jours par rapport aux souris n'ayant subi aucun traitement (7).

Cette étude a permis de démontrer que l'activité antiparasitaire *in vitro* du Malarial 5 est surtout due à *Lippia chevalieri* et à *Spilanthes oleracea*. Sur la base de ces résultats, les auteurs ont suggéré de modifier les proportions du mélange en augmentant le pourcentage de *Spilanthes oleracea*, qui passera de 4% à 6%, dans la nouvelle formule .

Ces deux études aboutissent aux mêmes conclusions. La quantité de *Spilanthes* présente dans le Malarial 5 n'est pas suffisante pour permettre une action schizonticide réellement efficace. Il faudrait pouvoir augmenter la dose de *Spilanthes oleracea* (ce qui semble difficile pour la forme poudre, compte tenu du goût piquant et âcre que confère le *Spilanthes oleracea* au Malarial). Il conviendrait de passer à une autre forme galénique, par exemple produire des extraits riches en principes actifs et les proposer sous forme de gélules.

TRAVAUX PERSONNELS

Pour atteindre nos objectifs, nous avons effectué des études phytochimiques préliminaires, des dosages des constituants chimiques identifiés et les dosages des substances extractibles par différents solvants (eau, éther, éthanol) dans les capitules de *Spilanthes oleracea*. Une chromatographie sur couche mince de l'extrait riche en Spilanthol a été effectuée. Pour faciliter la compréhension au lecteur, nous avons présenté certains résultats obtenus à chaque étape dans cette section.

I. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Les capitules de *Spilanthes oleracea*, objet de notre étude, proviennent de la récolte du champ expérimental de l'IPR. Des échantillons sont conservés dans l'herbier du DMT. Nous avons utilisé de la poudre de capitules pour faire les caractérisations et les dosages de certains constituants chimiques.

2. Méthodes

2.1. Essais chimiques préliminaires

Les réactions de caractérisation préliminaires permettent de vérifier très rapidement la présence des différents groupes chimiques dans la drogue objet de l'étude.

Dans un premier temps, les essais préliminaires nous ont permis de caractériser les principes actifs les plus courants de la plante (alcaloïdes, hétérosides, saponosides, hétérosides cardiotoniques, hétérosides cyanogénétiques, substances polyphénoliques: flavonoïdes, tanins, anthocyanes, coumarines, stérols et terpènes, mucilages, etc...)

Alcaloïdes

A. Solution à analyser

Prendre 10g de matière végétale séchée pulvérisée que l'on met dans un Erlenmeyer. Ajouter de l'acide sulfurique dilué au 1/10, dans le rapport 5 : 1 à 10 : 1 (Volume d'acide : Masse de la plante, c'est à dire 50 ml de H₂SO₄ dilué) puis boucher. Agiter, laisser macérer 24 h à la température du laboratoire. Filtrer sur du papier puis laver à l'eau, de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

B. Caractérisations

1. Réaction de précipitation

Nous avons pris deux tubes à essais, dans chacun desquels nous avons introduit 1ml de filtrat . Dans le tube N°1, introduire 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium). Dans le tube N°2, mettre 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse de iodobismuthite de potassium). Après observation, nous obtenons un précipité abondant avec le réactif de Dragendorff. Pour confirmer la présence d'alcaloïdes, nous avons procédé à une extraction. Introduire 25 ml de filtrat dans une ampoule à décanter. Alcaliniser jusqu'à pH = 8-9 en ajoutant 25 ml de NH₄OH dilué au 1/2. Ajouter 25 ml de chloroforme puis agiter.

Après décantation, soutirer la phase organique. Refaire cette opération trois fois. Réunir les phases organiques et les faire sécher sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer puis répartir entre deux capsules.

Evaporer à sec puis reprendre le résidu de la première capsule par 2 ml de HCl dilué au 1/10. Partager cette solution entre deux tubes à essais et essayer de nouveau les révélateurs généraux des alcaloïdes. Si ces révélateurs donnent une réaction positive, nous pouvons donc confirmer la présence d'alcaloïdes.

2. Alcaloïdes des solanacées mydriatiques (Type tropanique)

Le résidu de la deuxième capsule est repris par 1 ml d'acide nitrique fumant, puis évaporé à sec. Après refroidissement, introduire dans la capsule 10 ml d'acétone pure, puis ajouter goutte à goutte une solution de KOH à 5 %. Il n'y a pas de coloration violette (la réaction de Vitali-Morin est négative), donc pas d'alcaloïdes des solanacées mydriatiques.

Substances polyphénoliques

A. Solution à analyser

Infusé à 5 % : 5g de poudre de capitules séchés sont mis dans 100 ml d'eau bouillante, dans un Erlenmeyer de 250 ml. Arrêter l'ébullition, puis refermer à l'aide d'un verre à montre ou surmonter d'un entonnoir. Laisser infuser pendant 15 mn. Filtrer sur papier puis rincer avec un peu d'eau chaude, de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

B. Caractérisation

1. Tanins

Dans un tube à essais, on introduit 5 ml d'infusé à 5 %. On ajoute 1 ml de solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une coloration verdâtre nous permet de conclure à la présence de tanins.

5 ml d'infusé à 5 % et 1 ml de HCl concentré sont portés à ébullition pendant 10 mn. On obtient la formation d'un précipité rouge, soluble dans l'alcool isoamylique. On peut donc dire qu'il y a présence de tanins catéchiques.

Réaction de Stiasny :

30 ml d'infusé à 5% sont ajoutés à 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % + 5 ml de HCl concentré). On chauffe le tout au bain-marie à 90° pendant 15 mn. On obtient un précipité. Filtrer et saturer de filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter quelques gouttes de FeCl_3 à 1% (1 ml). Une teinte bleu foncé se développe, ce qui indique la présence de tanins galliques, non précipités par le réactif de Stiasny

2. Anthocyanes

Prise d'essai : 5 ml d'infusé à 5% + 5 ml de H_2SO_4 à 10 % et 5 ml de NH_4OH dilué au $\frac{1}{2}$. Il ne se forme pas de coloration bleu violacé en milieu basique, il n'y a donc pas d'anthocyanes.

3. Flavonoïdes

Réaction de la cyanidine : Prise d'essai : 5 ml d'infusé à 5% + 5 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool à 95° + 5 ml d'eau distillée + 5 ml de HCl concentré). On ajoute quelques gouttes de copeaux de magnésium + 1 ml d'alcool isoamylique. L'apparition d'une coloration rose orangé (flavones), rose violacé (flavanones) ou rouge (flavonols ou flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génines).

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. On obtient une coloration jaune, d'où la présence de génines flavoniques.

Dérivés anthracéniques

A. Solutions à analyser

1. Extrait chloroformique

Prise d'essai : 1g de poudre de capitules et 10 ml de chloroforme. Chauffer 3 mn au bain-marie. Filtrer et compléter à 10 ml.

2. Hydrolysât

Prise d'essai : une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme additionnée de 10 ml d'eau et d'1 ml de HCl concentré. Maintenir au bain-marie bouillant pendant 15 mn, refroidir puis filtrer.

B. Caractérisations

1. Anthracéniques libres

Prise d'essai : 1 ml d'extrait chloroformique + 1 ml de NH_4OH dilué. Agiter. La présence des anthracéniques est indiquée par une coloration plus ou moins rouge. La réaction est négative.

2. Anthracéniques Combinés

a) O-Hétérosides

Prise d'essai : 5 ml d'hydrolysât et 5 ml de CHCl_3 dans une ampoule à décanter. Agiter, puis récupérer la phase organique dans un tube à essais. Après avoir ajouté à la phase organique 1ml de NH_4OH dilué, agiter. Il n'y a pas de coloration rouge, la réaction est donc négative.

b) C-Hétérosides

Reprendre la phase aqueuse avec 10 ml d'eau et 1ml de FeCl_3 à 10%. Mettre le tube à essais au bain-marie bouillant pendant 30 mn. Refroidir. Agiter avec 5 ml de CHCl_3 .

La phase chloroformique est recueillie dans un tube à essais. On y ajoute 1 ml de NH_4OH dilué et on agite. Il n'y a pas de coloration rouge, donc pas de génines C-hétérosides. On peut conclure que la drogue ne contient pas de dérivés anthracéniques.

Sterols et Terpenes

A. Extrait étheré

Prise d'essai : 1g de poudre de capitules et 20 ml d'éther sont introduits dans un tube à essais. Boucher et agiter. Après 24 heures, filtrer et compléter à 20 ml.

B. Caractérisations

Réaction de Lieberman - Burchard :

Après évaporation à sec de 10 ml d'extrait dans une capsule, dissoudre le résidu dans 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme. Recueillir dans deux tubes à essais dont l'un servira de référence. Mettre 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré au fond du tube à essais. On assiste à la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact et la couche surnageante est verte ou violette. La réaction est donc positive, ce qui permet de conclure à la présence de stérols et de triterpènes.

Coumarines

Pour la caractérisation des coumarines nous avons utilisé l'extrait étheré de 24h. Evaporer 5 ml d'extrait étheré. Laisser macérer pendant 24 heures dans une capsule et à l'air libre, puis ajouter 2 ml d'eau chaude au résidu. Partager entre deux tubes à essais. Ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de NH_4OH à 25 %. Mélanger. On observe une légère fluorescence sous UV à 366 nm : la réaction est positive.

Hétérosides cardiotoniques

A. Solution à analyser

Prise d'essai : 1g de poudre et 10 ml d'alcool à 60° + 5ml d'acétate neutre de plomb à 10%. Porter au bain-marie bouillant pendant 10 mn. Filtrer sur coton.

B. Caractérisation

Agiter le filtrat avec 10 ml de $CHCl_3$ dans une ampoule à décanter. Laisser décanter, soutirer la phase chloroformique et la partager entre trois tubes à essais. Evaporer au bain-marie à sec. Reprendre les résidus par 0,4 ml d'isopropanol.

Ajouter dans :

- Tube N°1 : 1 ml de réactif de Baljet. Il y a formation de coloration orange.
- Tube N°2 : 1 ml de réactif de Keede. Il y a formation de coloration rouge violacé.
- Tube N°3 : 1 ml de réactif de Raymond - Marthoud. Il y a formation de coloration violet fugace.

Ces réactions prouvent la présence d'hétérosides cardiotoniques.

Saponosides

A. Préparation du décocté à 1%

On fait bouillir dans 100 ml d'eau distillée 1g de poudre de drogue, le tout dans un Erlenmeyer de 250 ml. Maintenir à ébullition modérée pendant 15 mn. Filtrer et ajuster à 100 ml après refroidissement.

B. Caractérisation

Numéroter 10 tubes à essais de 1 à 10. Répartir successivement 1,2... 10 ml de décocté à 1%. Ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15 mn. Mesurer ensuite la hauteur de la mousse. La mousse disparaît dans chaque tube : la réaction est négative, donc il n'y a pas de saponosides.

Autres caractérisations

1. Composés réducteurs

Prise d'essai : 5 ml de décocté aqueux à 10% dans une capsule. Evaporer au bain-marie à sec. Ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling. On assiste à la formation d'un précipité rouge brique : la réaction est positive.

2. Oses et holosides

Prise d'essai : 5 ml de décocté à 10% dans une capsule. Evaporer au bain - marie à sec. Ajouter 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. 5 mn après ajouter 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol. On a formation d'une coloration rouge, la réaction est donc positive.

3. Mucilages

Prise d'essai : 1 ml de décocté à 10% + 5ml d'alcool absolu. Il y a formation d'un précipité floconneux prouvant la présence de mucilages.

4. Hétérosides cyanogénétiques

Prise d'essai : 1g de poudre de capitules et 5 ml d'un mélange d'eau et de toluène à volume égal. Agiter, nettoyer la partie supérieure du tube à essais. Le papier picrosodé fraîchement préparé et fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube reste incolore : la réaction est négative.

2.2. Dosages

1) Teneur en eau

Pour la bonne conservation des drogues, la teneur en eau doit être inférieure à 10%. Pour la détermination de la teneur en eau nous avons utilisé deux méthodes: la méthode gravimétrique et la méthode volumétrique.

1. Méthode gravimétrique

C'est une perte d'eau (masse) par dessiccation à l'étuve. L'échantillon doit être homogène, broyé ou concassé. Prendre une prise d'essai (PE) de 1 à 2 g environ (pesés au mg près).

On utilise des verres de montre pour les pesées. La température de dessiccation doit être de 103 ± 20 °C. Dessécher à l'étuve à poids constants. Deux pesées consécutives sont effectuées après 24 h à l'étuve à 110°C. Entre deux pesées à une heure d'intervalle, la différence de masse doit être aux environs de 0,5 mg/g de substance analysée. Le refroidissement après dessiccation a été effectué dans un dessiccateur renfermant du chlorure de calcium.

2. Méthode volumétrique

C'est le dosage de l'eau par entraînement azéotrope. L'eau est entraînée par distillation d'un solvant qui ne lui est pas miscible. La réaction azéotrope se fait à une température d'ébullition constante. Après une condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et est mesurée en volume.

Le solvant utilisé a été le Toluène (point d'ébullition 110°C)

Conditions de dosage

Prise d'essai (PE) = 5 g

Volume de toluène = 100 ml

Volume d'eau distillée = $V_0 = 1$ ml

Volume final = $V_f = V_i +$ Volume d'eau contenu dans la drogue

Volume Initial = V_i

Durée de marche = 3 heures

1 heure d'ébullition de l'eau contenue dans le toluène (1ml)

30 mn de refroidissement du dispositif

1 heure d'ébullition de la drogue elle-même

30 mn de refroidissement

Pourcentage d'eau contenue dans la drogue
$$= \frac{(V_f - V_i) \times 100}{PE} = 6\%$$

$V_i = 0,80$ ml

$V_f = 1,10$ ml

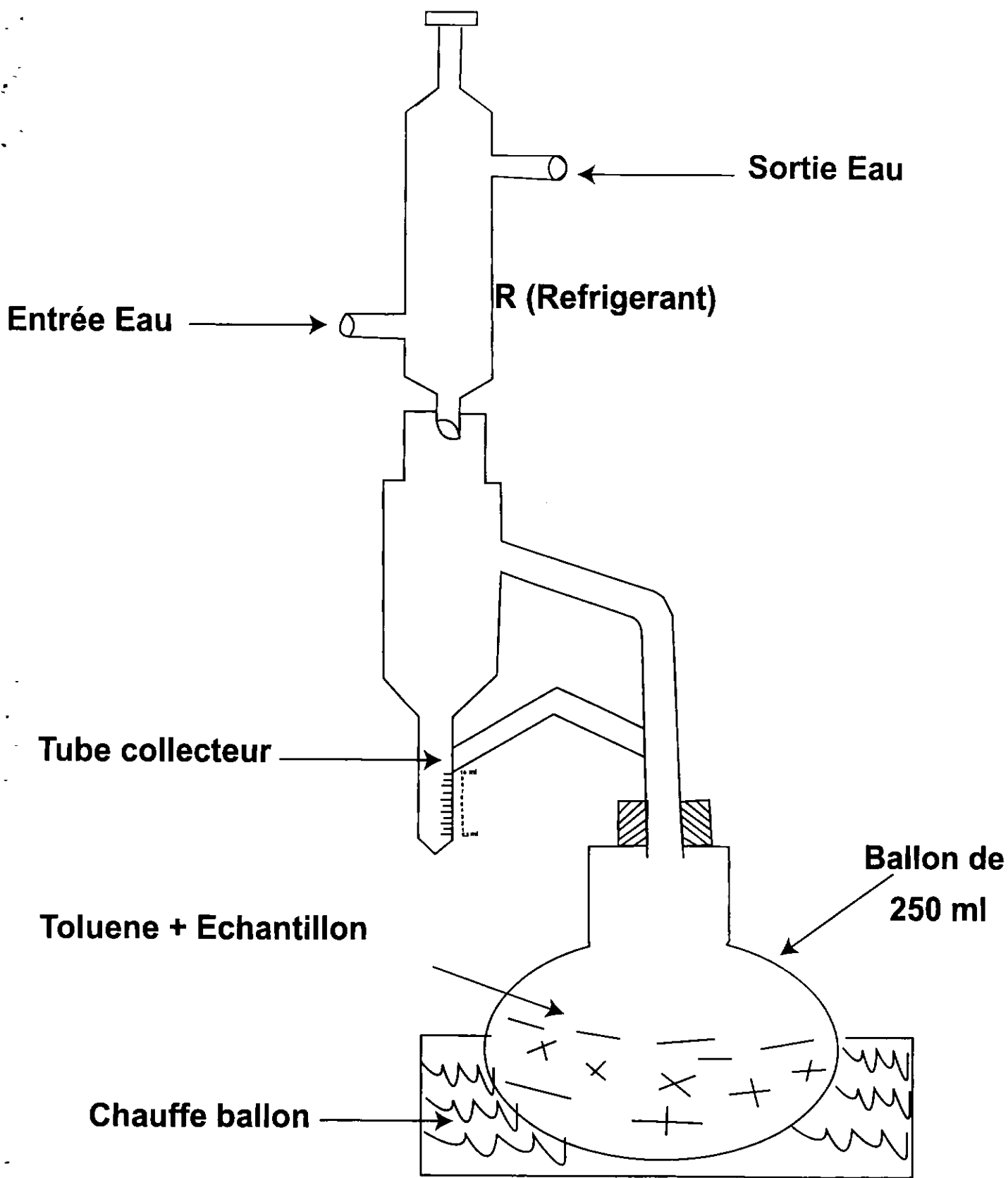


Schéma N°1 : Appareil pour le dosage de l'eau par entraînement azéotropique

II) Teneur en cendres

1. Cendres totales

Les cendres totales résultent de la calcination complète de la drogue à l'air.

Mode opératoire

Un creuset de quartz est préalablement calciné au rouge, refroidi et taré. On y introduit une prise d'essai de 1 à 5 g de drogue concassée ou pulvérisée. Incinérer doucement sans dépasser 800°C au four à moufle. On doit interrompre la calcination à temps pour éviter que les drogues ligneuses ne forment du charbon. Laisser refroidir et humecter d'eau distillée. Reprendre très doucement l'incinération pour éviter les projections. Après disparition de toute particule noire, laisser refroidir dans un dessiccateur puis peser. On rapporte les cendres à 100 g de drogue.

Nb : La teneur en cendres totales est déterminée à partir de la poudre ayant servi au dosage de l'eau par la méthode gravimétrique. Cette poudre est incinérée puis calcinée dans une capsule de quartz jusqu'à obtention de cendres blanches.

2. Cendres sulfuriques

Les cendres sulfuriques résultent de la calcination au contact de l'air, après attaque par l'acide sulfurique (H_2SO_4). Le dosage proposé par la Neuvième Edition de la Pharmacopée Française donne des résultats plus constants que celui des cendres totales, les carbonates et les oxydes se trouvant tous convertis en sulfates non volatils. Porter au rouge, pendant 10 minutes, un creuset de silice ou de platine de forme basse. Laisser refroidir dans un dessiccateur et tarer le creuset. La prise d'essai, de 4 à 5 g, exactement pesée, est placée dans celui-ci. On la mouille avec une quantité suffisante de H_2SO_4 concentré, préalablement dilué par un volume égal d'eau. On chauffe au bain-marie jusqu'à évaporation à sec, puis à feu nu, d'abord avec précaution, puis jusqu'au rouge sombre (600°). On maintient la calcination jusqu'à disparition des particules noires. Laisser refroidir, ajouter au résidu 5 gouttes de H_2SO_4 dilué au demi, puis évaporer et calciner comme précédemment jusqu'à poids constant après refroidissement dans le dessiccateur. On calcule le taux de cendres sulfuriques en les rapportant à 100 g de substance. La calcination peut être effectuée dans un four à moufle.

3. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (HCl) à 10%

Mode opératoire

On ajoute aux cendres totales 20 ml de HCl à 10%. Chauffer dans une fiole conique pendant quelques minutes au bain-marie. Filtrer, puis laver le résidu insoluble à l'eau très chaude. Incinérer le filtre séché et le résidu insoluble jusqu'à poids constant à 1mg près. Laisser refroidir puis peser. Ce dosage est prescrit dans différentes Pharmacopées qui fixent pour plusieurs drogues la teneur maximale autorisée. En effet, le résidu est constitué de silice. Sauf expositions (comme dans le cas des prêles), il représente le sable qui peut souiller les drogues mal lavées ou mal triées. Dans les cendres, les éléments peuvent être caractérisés et éventuellement dosés par des méthodes classiques : colorimétrie, complexométrie, photométrie de flamme.

Nb : Les cendres sont très abondantes dans les plantes cultivées avec apport d'engrais.

Le dosage des cendres permet de mettre en évidence les charges minérales des drogues coûteuses comme le Safran. Il est aussi important pour les drogues inorganisées : résines, gommes, baumes, etc....

Matériel utilisé

- Dessiccateur
- Creuset en silice
- Balance analytique de précision type Sartorius
- Four électrique à 800°C
- Pincettes métalliques

Méthode de Calcul

Tare = 29,5489g

Masse totale avant calcination = 33,6267g

Masse cendres totales = Masse totale avant calcination (MT) – Tare = 4,0778g

Masse cendres insolubles dans HCl = Masse totale après calcination – Tare = 0,5329g

Cendres insolubles dans HCl à 10% = $\frac{\text{Masse cendres ins. dans HCl à 10\%} \times 100}{\text{Masse cendres totales}}$ = 26,882%

On calcule ensuite le taux de cendres insolubles dans HCl en les rapportant à 100 g de drogue.

$$\text{Cendres insolubles dans HCl à 10\%} = \frac{\text{Masse cendres ins. dans HCl à 10\%} \times 100}{\text{Masse drogue d'essai (6,1128g)}} = 8.7177 \%$$

III) Dosage des substances extractibles par l'eau

Prendre 1 g de drogue + 20 ml d'eau. Préparer une décoction pendant environ 15 minutes. Laisser refroidir pendant 20 minutes et filtrer. Peser un ballon d'évaporation vide (soit n). Mettre le filtrat dans le ballon pesé. Evaporer à sec et peser le ballon avec l'extrait sec (soit n').

$$\text{Pourcentage de substances extractibles par l'eau} = (n' - n) \times 100 / 1.$$

IV) Dosage des constituants chimiques

1. Alcaloïdes

Pour la détermination du pourcentage des alcaloïdes, introduire dans un Erlenmeyer la prise d'essai de la drogue (PE), 3 g. Ajouter 25 ml de H_2SO_4 à 10% et 5 ml d'eau distillée. Mélanger et agiter avec un agitateur magnétique. Filtrer et compléter à 50 ml avec de l'eau distillée. Ajouter du NH_4OH dilué au demi jusqu'à odeur pH 8-9. Epuiser la solution ainsi obtenue avec 50 ml de $CHCl_3$ (premier essai 20 ml, deuxième 20ml et troisième 10 ml). Recueillir le filtrat de $CHCl_3$ dans un erlenmeyer et sécher avec du sulfate de sodium anhydre. Peser une capsule vide, filtrer l'extrait chloroformique et le mettre dans la capsule. Evaporer au bain-marie. Repeser la capsule.

$$\text{Masse d'alcaloïdes: } S = (\text{Poids Vide cap} + S) - \text{Poids Vide cap}$$

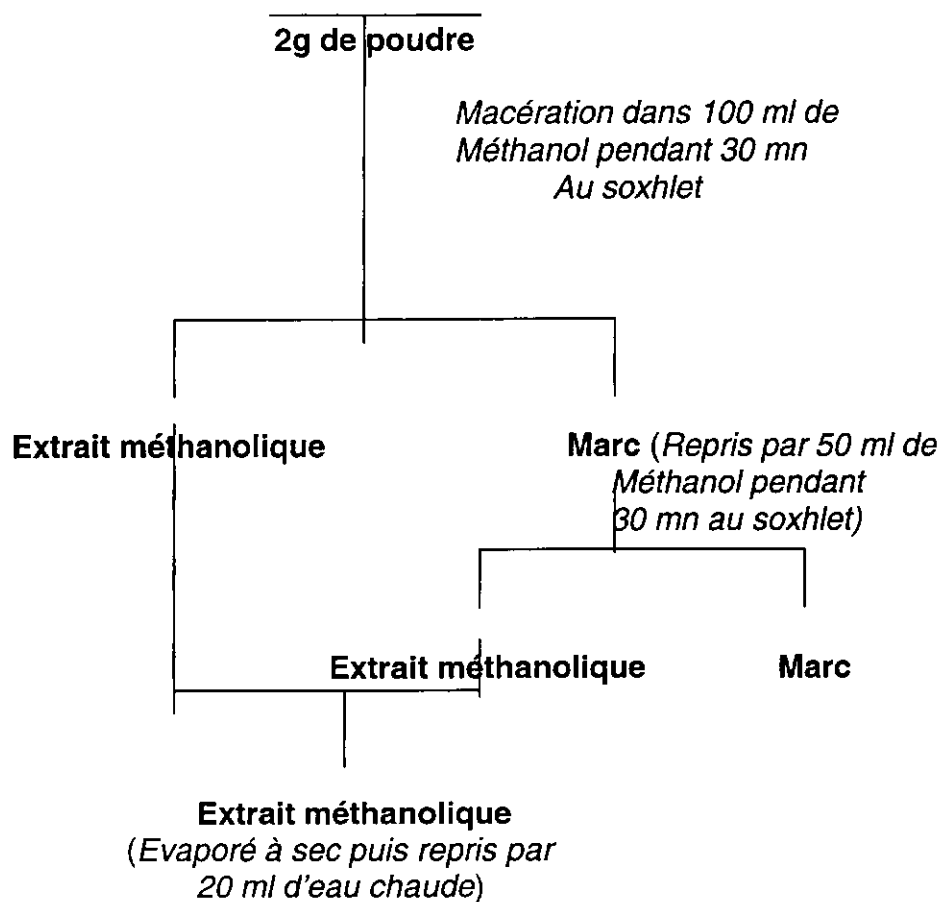
$$\text{Pourcentage d'alcaloïdes} = \frac{S \times 100}{PE}$$

2. Flavonoïdes

Principe du dosage: Détermination de la quantité de flavonoïdes contenus dans 100 g de poudre de capitules. Cette détermination est effectuée par spectrophotométrie, à partir d'une solution extractive, en comparaison avec une solution témoin de quercétine dans le méthanol (500 $\mu g/ml$).

Extraction

Le méthanol a été utilisé pour l'extraction des flavonoïdes selon le schéma suivant:



Evaluation de la densité optique

Nous avons réalisé une droite d'étalonnage avec comme témoin la quercétine. La gamme de référence se prépare de la façon suivante: à partir d'une solution de quercétine de 500 $\mu\text{g/ml}$ dans le méthanol, on fait une gamme qui apporte dans 6 ml du mélange de réactifs (voir Tableau) respectivement 25, 50, 75 et 100 $\mu\text{g/ml}$ de produit par ml. Nous partons du spectre du produit chélaté par AlCl_3 . Dans des tubes à essais (16 X 16) sont mesurés respectivement en ml la solution de quercétine et les réactifs, comme l'indique le tableau ci-dessous. La lecture de la densité optique se fait à la longueur d'onde de 350 nm au spectrophotomètre. L'extrait de chaque échantillon est également dosé dans les mêmes conditions, après addition des réactifs dans l'ordre indiqué par le Tableau II.

Tableau II: Réactifs pour le dosage des flavonoïdes (volumes en ml)

	Essai	Blanc
Extrait	2	2
Solution aqueuse d'acide acétique à 1%	1	1
Solution aqueuse pyridine 2%	2	2
Solution alcoolique AlCl ₃ 0,5M	1	0
Alcool éthylique à 95°	0	1

Préparation de la solution alcoolique de AlCl₃ à 0,5 M

Masse molaire de AlCl₃ = 27 + (3 x 35,5) = 133,5g/mol pour 1litre

1 M de AlCl₃ = 133,5 g

0,5 M de AlCl₃ = 133,5 : 2 = 66,75g/mol/l

66,75g/mol -----> 1000 ml

X -----> 100 ml

$$X = \frac{66,75 \times 100}{1000} = 6,675 \text{ g}$$

Nous avons pris 100 ml d'éthanol + 6,675g de AlCl₃

Préparation et détermination de la solution témoin

Préparation de la solution mère

Nous avons pris 4mg de quercétine pour 8 ml de méthanol, soit 500 µg/ml de quercétine

Autres dilutions

- 2 ml de solution mère + 8 ml de méthanol ---> solution à 100 µg/ml
- 1 ml de solution mère + 9 ml de méthanol ---> solution à 50µg/ml
- 2 ml de solution à 50 µg /ml + 2ml de méthanol ----> solution à 25 µg/ml
- 3ml de solution à 100 µg /ml + 1ml de méthanol -> solution à 75 µg/ml

Calcul de la teneur en flavonoïdes

L'échantillon a été dilué au 1/20.

0,073 → 16 µg/ml ce qui correspond à la dilution au 1/20. Pour revenir à la solution mère, nous aurons : 16 x 20 = 320 µg/ml

$$\begin{array}{l} 320 \mu\text{g} \quad \rightarrow 1 \text{ ml} \\ X \quad \quad \quad \rightarrow 20 \text{ ml} \end{array}$$

$$X = \frac{320 \times 20}{1} = 6400 \mu\text{g} = 6,4 \text{ mg}$$

$$\begin{array}{l} 2\text{g de poudre} \rightarrow 6,4 \times 10^{-3} \text{ g} \\ 100 \text{ g} \quad \quad \rightarrow X \end{array}$$

$$X = \frac{6,4 \times 10^{-3} \times 100}{2} = 0,32\%$$

La teneur en flavonoïdes calculée à partir de la gamme d'étalonnage est de 0,32 % en quercétine.

3. Tanins

Extraction

Prise d'essai : 2g de poudre de capitules et 150 ml d'eau distillée. Chauffer au bain-marie à 80°C pendant 30 mn. Refroidir, transférer dans une fiole jaugée puis compléter à 250 ml par l'eau distillée. Filtrer en rejetant les 50 premiers ml, garder le reste du filtrat.

A) Dosage des tanins totaux

Prise d'essai : 5 ml d'extrait + 25 ml d'eau distillée. Prendre 2 ml de cette solution + 1 ml d'acide phosphotungstique + 17 ml de solution de carbonate de Sodium (380g/l). Après 2mn, déterminer l'indice d'absorption E1 à 750 nm.

$$E1 = \begin{array}{|l} 0,122 \\ 0,134 \\ 0,152 \\ 0,120 \end{array} \quad E1 \text{ moyen} = 0,132$$

B) Dosage des tanins liés

Prise d'essai : 10 ml d'extrait + 1g de poudre de peau. Agiter pendant 60 mn, puis filtrer. 5 ml du filtrat sont dilués par 25 ml d'eau distillée. A 2 ml de cette solution on ajoute 1 ml d'acide phosphotungstique + 17 ml de solution de carbonate de sodium (380g/l). On détermine l'indice d'absorption E2.

$$E2 = \begin{array}{|l} 0,179 \\ 0,145 \\ 0,143 \\ 0,160 \end{array} \quad E2 \text{ moyen} = 0,157$$

C) Préparation et détermination de la solution témoin

Prendre 50 ml de pyrogallol + 100 ml d'eau distillée. A 5 ml de ce mélange, ajouter 100 ml d'eau distillée. Prise d'essai : 2ml de cette solution + 1 ml d'acide phosphotungstique + 17 ml de solution de carbonate de sodium (380g/l). Laisser reposer pendant 30 mn, en évitant la lumière. Puis on détermine l'indice d'absorption E3.

$$E3 = \begin{array}{|l} 0,204 \\ 0,192 \\ 0,215 \\ 0,194 \end{array} \quad E3 \text{ moyen} = 0,201$$

$$\text{Pourcentage en tanins} = \frac{4,2 \times 3,125 (E1-E2)}{P \times E3}$$

Donc :

$$\text{Pourcentage en tanins} = \frac{4,2 \times 3,125 (0,152 - 0,143)}{2 \times 0,204} = 0,2895 \% = 0,29\%$$

V) Extraits riches en Spilanthol

Extraction et dosage

Nous avons effectué une extraction au Soxhlet: la drogue a été extraite successivement par l'éther éthylique (Et₂O) et par l'éthanol.

Matériel

Pour l'extraction:

- une colonne de Vigreux,
- un appareil de Soxhlet,
- un système réfrigérant,
- un ballon à distiller,
- un chauffe ballon,
- des cartouches en papier filtre, du coton de verre.

Pour l'élimination du solvant:

- un Rotavapor,
- un bain-marie thermostaté,
- des ballons de différentes capacités.

Mode opératoire

Nous avons utilisé 3 cartouches contenant différentes quantités de poudre de capitules. Nous avons procédé à des pesées pour lesquelles nous avons obtenu les valeurs suivantes :

Cartouche N°1: poids de la drogue = 5,1426 g

Cartouche N°2: poids de la drogue = 4,0942 g

Cartouche N°3: poids de la drogue = 4,0301 g

La somme des poids de la drogue contenue dans les trois cartouches a permis d'avoir une prise d'essai (P.E) de 13,2669g.

L'extraction a été faite au Soxhlet par 500 ml d'éther éthylique à 40°C. L'extrait obtenu est de couleur verte. L'évaporation du solvant a été faite au Rotavapor, dans un flacon dont le poids est de 33,1113 g. Après évaporation, on obtient un poids P = 33,4363 g, qui représente le poids du flacon contenant l'extrait sec. Ceci nous a permis d'obtenir la quantité de substances extractibles par l'Et₂O : 33,4363 – 33,1113 = 0,325g

$$\text{Pourcentage de substances extractibles par Et}_2\text{O} = \frac{0,325 \times 100}{13,2669} = 2,45\%$$

L'extraction par l'éthanol a été effectuée sur la même drogue épuisée par Et₂O. L'extraction a été faite par 500 ml d'éthanol à 60°C. L'extrait obtenu est aussi de couleur verte. Le flacon dans lequel a lieu l'évaporation du solvant pèse 34,4291 g . Après évaporation, on obtient un poids P = 34,7243g. Le poids des substances extractibles par l'éthanol est 34,7243 – 34,4291 = 0,2952g

$$\text{Pourcentage de substances extractibles par l'éthanol} = \frac{0,2952 \times 100}{13,2669} = 2,23 \%$$

2.3. Chromatographie sur couche mince (CCM) de l'extrait éther éthylique des capitules de *Spilanthes oleracea*.

Nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince pour le contrôle de qualité de l'extrait des capitules du *Spilanthes* . Nous avons préféré une extraction à froid simple et rapide pour obtenir un extrait riche en Spilanthol.

A) Extraction

50g de poudre de capitules de *Spilanthes* ont été mis en macération dans 500 ml d'éther éthylique à la température du laboratoire. L'opération a été réalisée dans une ampoule à décanter, Après 24 heures de macération, extrait éther éthylique a été concentré au Rotavapor. Le résidu obtenu a été repris par un mélange Ethanol-Eau (80-20/V-V), agité et filtré. Le filtrat a été évaporé à sec au Rotavapor. Le résidu obtenu a été repris par 2 ml d'éther éthylique et a servi pour la CCM.

Pour la chromatographie sur couche mince nous avons utilisé deux échantillons : le premier (**échantillon 1**) provenant d'une ancienne extraction et le deuxième (**échantillon 2**) extrait le jour même de l'expérimentation.

B) Chromatographie sur couche mince

Pour la CCM nous avons utilisé deux plaques de gel de Silice GF254, comme support, et, comme solvant de migration, un mélange Chloroforme: Ethanol (8-2/V-V). La quantité de l'extrait déposée a été de 10µl. Après migration, nous avons fait la lecture à la lumière U.V. à 254 nm: on distingue bien les éléments (3 taches colorées différemment). Par contre, la lecture à 366 nm ne permet pas une bonne distinction des taches.

Une des deux plaques a été révélée avec une solution de vanilline sulfurique, après chauffage à 100 °C pendant 5 min et l'autre, non révélée, a été retenue comme témoin.

Pour chaque tache nous avons calculé le facteur de rétention (R.F.)

$$\text{R. F.} = \frac{\text{Distance de migration de la tache}}{\text{Front de migration du solvant}}$$

RESULTATS

Pour mieux connaître le *Spilanthes oleracea* Jacq au point de vue phytochimique, nous avons effectué des études phytochimiques préliminaires, le dosage de l'eau, des cendres, des substances extractibles par l'eau et par l'éther, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins. Nous avons aussi analysé les capitules de *Spilanthes oleracea* pour le dosage des extraits riches en Spilanthol . Enfin, nous avons effectué le contrôle de qualité de cet extrait par chromatographie sur couche mince.

1. Essais chimiques préliminaires

Les résultats des essais chimiques préliminaires effectués sur la poudre de capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq au DMT sont reportés dans le Tableau III.

Tableau III: Résultats des essais chimiques préliminaires

RECHERCHE	RESULTATS	
	COLORATION	INTERPRETATION
Hétérosides cyanogénétiques	Jaune	-
Coumarines (fluorescence U.V.366nm)	Verte	+
Caroténoïdes (Carr et Price)	Verte	-
Génines anthracéniques	Blanchâtre	-
C-Hétérosides (anthracéniques)	Blanchâtre	-
O-Hétérosides (anthracéniques)	Blanchâtre	-
Génines flavoniques	Jaune	++
Hétérosides flavoniques	Jaune	++
Alcaloïdes : Bases	Blanchâtre	+++
Alcaloïdes : sels	Grise	+++
Saponosides : indice de Mousse	-	-
Tanins catéchiques :	Grise	+++
Tanins galliques :	Bleu noir	+++
Composés réducteurs	Rouge brique	++++
Oses et holosides	Rouge	++++
Polyuronides (Mucilages)	Grise	++++
Stérols et triterpènes :	Rouge	++++
Stérols et triterpènes : stéroïdes (Lieberman)	Verte	++++
Hétérosides Cardiotoniques (Raymond - Marthoud)	Violet fugace	++++
Hétérosides Cardiotoniques (Keede)	Rouge violacé	++++
Hétérosides Cardiotoniques (Baljet)	Orangée	++++
Anthocyanes	Grise	-
Leucoanthocyanes	Rouge cerise	+++
Quinones	-	-
Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	Jaune	-

- : Absence
- + : Présence
- ++ : Abondant
- +++ : Très abondant
- ++++ : Très très abondant

2. Dosages

Nous avons dosé dans les capitules de *Spilanthus oleracea* Jacq la teneur en eau, les cendres, les substances extractibles par l'eau et par l'éther, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et le spilanthol.

I) Teneur en eau

1. Teneur en eau par la méthode gravimétrique

Les résultats du dosage de la teneur en eau de la poudre de capitules de *Spilanthus Oleracea* Jacq après dessiccation à l'étuve par la méthode gravimétrique sont reportés dans le tableau IV.

Tableau IV: Teneurs en eau de la poudre de capitules de *Spilanthus Oleracea* Jacq (Méthode gravimétrique)

Tare	Masse totale avant étuve	Masse totale après étuve	Masse drogue essai	Masse eau	% Eau
13,3059	14,7459	14,6677	1,44	0,0782	5,4305%
14,1079	15,1949	15,1394	1,087	0,0555	5,1057%
13,2563	14,4555	14,3963	1,1992	0,0590	4,9199 %
12,6329	13,9109	13,8453	1,278	0,0656	5,1330%
13,1851	14,2937	14,2421	1,1086	0,0516	4,6545%
Pourcentage moyen en eau					5,0487%

2. Teneur en eau par la méthode volumétrique

La teneur en eau par entraînement azéotrope dans la poudre de capitules de *Spilanthus Oleracea* Jacq est de 6 % calculée selon la formule reportée ci-dessous:

$$\text{Pourcentage d'eau contenue dans la drogue} = \frac{(V_f - V_i) \times 100}{PE} = 6\%$$

$$V_i = 0,80 \text{ ml}$$

$$V_f = 1,10 \text{ ml}$$

II) Teneur en cendres

1. Cendres totales

Tableau V: Dosage des cendres totales de la poudre de capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq..

Tare	Masse totale avant calcination	Masse totale après calcination	Masse drogue essai	Masse cendres	% cendres
24,1849	25,5405	24,4065	1,3556	0,2216	16,35%
16,9071	17,9295	17,0774	1,0221	0,17	16,63%
17,1819	18,3059	17,3674	1,1240	0,1855	16,50 %
17,5647	18,7501	17,7624	1,1854	0,1977	16,68%
29,5729	30,6225	29,7315	1,0496	0,1586	15,11%
Pourcentage moyen des cendres totales					16,25%

2. Cendres sulfuriques

La teneur des cendres sulfuriques dans la poudre des capitules de *Spilanthes oleracea* est de 19,00.% de drogue sèche.

3. Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (HCl) à 10%

La teneur des cendres insolubles dans acide chlorhydrique à 10% dans la poudre des capitules de *Spilanthes oleracea* est de 8.7177 % de drogue sèche.

III) Substances extractibles par l'eau

La poudre des capitules de *Spilanthes oleracea* contient 18,05% de substances extractibles par l'eau.

IV) Constituants chimiques

Selon les résultats des essais chimiques préliminaires, les pourcentages des constituants chimiques (alcaloïdes, flavonoïdes et tanins) ont été dosés dans la poudre de capitules de *Spilanthes oleracea*. Nous avons aussi dosé les substances extractibles par Et₂O (extrait riche en Spilanthol) et les substances extractibles par l'eau.

Le tableau ci - dessous montre les résultats des différents dosages effectués sur la poudre de capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq.

Tableau VI: Résultats des dosages effectués sur la poudre de capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de drogue sèche

DOSAGE		RESULTATS (%)
Substances extractibles par Et ₂ O riche en Spilanthol		2,45
Substances extractibles par l'eau		18,05
Tanins		0,29
Flavonoïdes		0,32
Alcaloïdes		0,64
Eau	Gravimétrique	5,04
	Azéotropique	6,00
Cendres totales		16,25
Cendres sulfuriques		19,00
Cendres Insolubles dans HCl 10%		8,71

V) Extraits riches en Spilanthol

Nous avons analysé les capitules du *Spilanthes oleracea* pour le dosage des extraits riches en Spilanthol. Nous avons également effectué le contrôle de qualité de l'extrait éther éthylique par chromatographie sur couche mince.

A) Extraction par l'Ether éthylique (Et₂O) et par l'Ethanol à chaud

Pour le dosage du spilanthol dans les capitules de *Spilanthes oleracea*. nous avons utilisé l'extraction au Soxhlet avec deux solvants:

- L'extraction par l'éther éthylique (Et₂O) nous a donné 2,45% de substances extractibles riches en Spilanthol.
- Pour l'extraction par l'éthanol le résultat obtenu est de 2,23% de substances extractibles riches en Spilanthol.

B) Chromatographie sur couche mince

Les résidus de l'extraction par éther éthylique, à froid, de poudre de capitule de *Spilanthes oleracea* (deux échantillons) ont été chromatographiés sur une plaque de gel de silice avec un système de solvants de migration (Chloroforme : Ethanol 8:2).

Après développement, on observe pour chaque échantillon quatre spots reportés dans le tableau ci dessous.

Tableau VII: Résultats de la CCM

Echantillon I	
Rf _{t1}	0,32
Rf _{t2}	0,73
Rf _{t3}	0,85
Rf _{t4}	0,96
Echantillon II	
Rf _{t1}	0,41
Rf _{t2}	0,71
Rf _{t3}	0,85
Rf _{t4}	0,97

Echantillon I: Extrait étheré après 10 mois de conservation

Echantillon II: Extrait étheré préparé le jour de l'expérimentation

Les taches de RF 0,96 (Echantillon I) et RF 0,97 (Echantillon II) se colorent en noir après pulvérisation d'une solution de vanilline sulfurique, puis séchage à l'étuve à 100 °C. Nous présentons ci-dessous les deux chromatogrammes. Le premier est le témoin et le second est le chromatogramme révélé.



Chromatogramme de l'extrait éther éthylique de capitules de
Spilanthes oleracea.

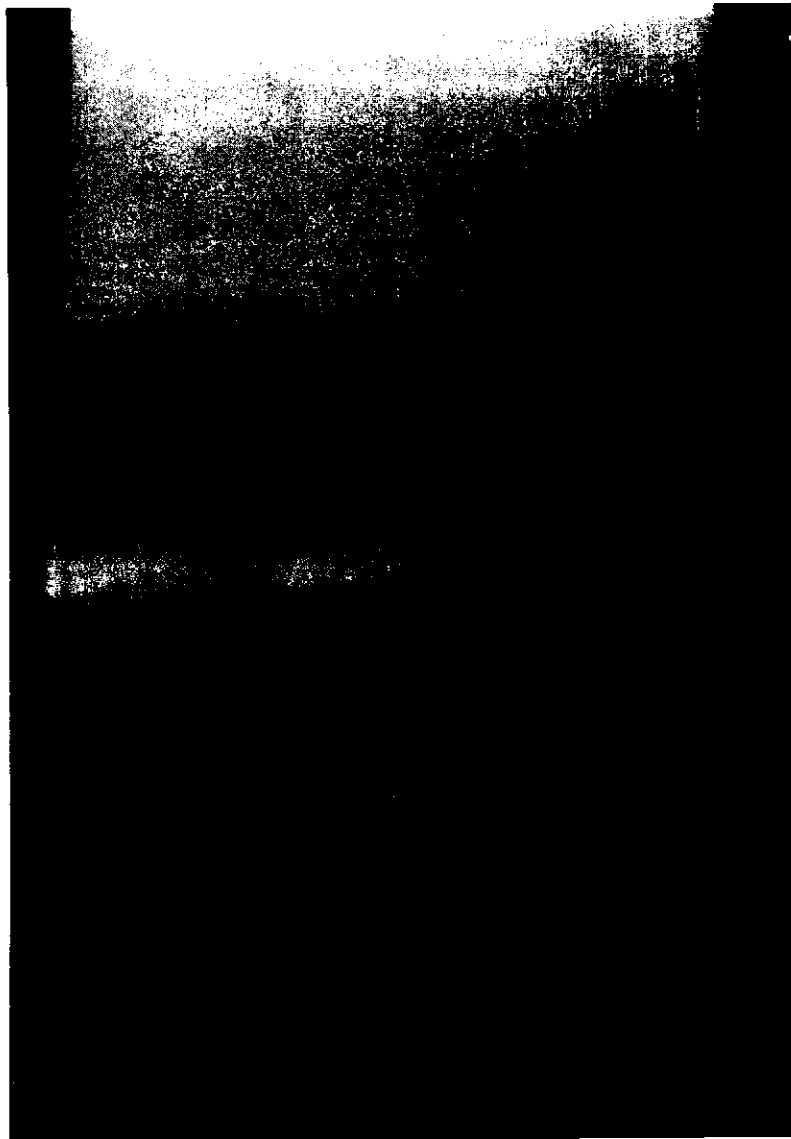
Echantillon I: Extrait étheré après 10 mois de conservation

Echantillon II: Extrait étheré préparé le jour de l'expérimentation

Support: Plaque de silice GF254,

Dépôt: 10 μ l

Solvant de migration: Chloroforme : Ethanol 8:2



**Chromatogramme de l'extrait éther éthylique de capitules de
Spilanthes oleracea.**

Echantillon I: Extrait étheré après 10 mois de conservation

Echantillon II: Extrait étheré préparé le jour de l'expérimentation

Support: Plaque de silice GF254,

Dépôt: 10 μ l

Solvant de migration: Chloroforme : Ethanol 8:2

Révélation: Solution de vanilline sulfurique

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Notre étude, qui avait pour objet de mieux connaître *Spilanthus oleracea* Jacq, nous a permis de passer en revue la littérature scientifique existante sur la plante au point de vue botanique, agronomique, chimique et pharmacologique.

Les informations botaniques rapportées sur *Spilanthus oleracea* permettent de mieux identifier la plante au sein des nombreuses espèces et variétés mentionnées dans la littérature.

Les résultats des études agronomiques de *Spilanthus oleracea*, effectuées par l'IPR de Katibougou, ont permis de connaître les meilleures conditions de culture et le temps balsamique pour la récolte des capitules de la plante. C'est ainsi qu'il a été constaté que les capitules de la première et de la deuxième récoltes ont une meilleure teneur en principes actifs.

La revue des nombreux travaux chimiques rapportés dans la littérature nous a permis de connaître les principaux constituants isolés dans les différents organes de la plante. Les méthodes d'extraction mentionnées par les différents auteurs ont été utiles pour le choix d'une méthode d'extraction simple et adaptée aux conditions expérimentales du DMT pour un contrôle de qualité de routine des capitules de *Spilanthus*.

Les études pharmacologiques effectuées par de nombreux auteurs ont mis en évidence les activités insecticides et molluscicides de la plante et de son principe actif, le Spilanthol. Ces activités sont intéressantes dans l'éradication de maladies parasitaires et infectieuses. Les propriétés antiparasitaires sont mises à profit par les populations locales pour combattre de grandes endémies comme le paludisme. Tout ceci confirme la pertinence de l'utilisation de *Spilanthus* dans le **Malarial 5** produit par le DMT. Rappelons que ce MTA antipaludéen figure dans la liste des Médicaments Essentiels au Mali.

Les études expérimentales réalisées par le DMT pour déterminer l'efficacité du Malarial 5 ont surtout porté, d'une part, sur des essais cliniques visant à comparer l'effet du Malarial 5 et de la chloroquine et, de l'autre, sur des expériences *in vitro et in vivo* destinées à mesurer l'efficacité du Malarial 5 et des plantes qui le composent. Ces études ont permis de démontrer les effets bénéfiques du Malarial 5 dans le traitement du paludisme et de prouver que l'activité antiparasitaire *in vitro* du Malarial 5 est surtout due à *Lippia chevalieri* et à *Spilanthus oleracea*. Ces études aboutissent aux mêmes conclusions : la quantité de *Spilanthus oleracea* présente actuellement dans le Malarial 5 n'est pas suffisante pour permettre une action schizonticide réellement efficace.

Il faudrait donc pouvoir augmenter la dose de *Spilanthes oleracea*. Cela s'avère difficile compte tenu de son goût piquant et âcre (picotements et engourdissement de la bouche) et surtout des propriétés anesthésiques locales du Spilanthol. Pour améliorer l'efficacité thérapeutique du Malarial 5 par augmentation de la quantité de *Spilanthes*, il y a donc lieu de changer de forme galénique en masquant ce goût, par exemple en proposant un extrait concentré sous forme de gélules. Il serait également intéressant d'étudier la possibilité d'une amélioration du Malarial 5 par l'exploitation des propriétés antiparasitaires de l'extrait aqueux de *Lippia chevalieri*.

Dans le cadre de nos travaux personnels, effectués sur les capitules de *Spilanthes oleracea* Jacq, nous avons pu confirmer la présence de certains constituants chimiques de la plante et connaître sa teneur en eau, en cendres, en alcaloïdes, flavonoïdes, tanins et en extraits riches en Spilanthol.

Nous avons également pu apprécier par chromatographie sur couche mince les spots qui peuvent servir pour un contrôle de qualité de la drogue.

Dans nos conditions d'expérimentation, les échantillons ne contenaient pas de saponosides. Les réactions d'identification des saponosides de la drogue à adopter doivent être plus spécifiques.

Nous avons pu caractériser et doser des alcaloïdes non mentionnés par les études précédentes. La teneur de la drogue en alcaloïdes mériterait des études plus approfondies, afin de mieux connaître leurs structures et leur activité biologique.

Le pourcentage de substances extractibles par l'eau confirme la présence dans la drogue de principes actifs hydrosolubles, comme les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes comme le Spilanthol, etc. Ces résultats confirment la pertinence du mode de préparation traditionnel, la décoction, du Malarial comme antipaludique. Il est certainement intéressant de noter que l'activité antipaludique de l'extrait aqueux des capitules de *Spilanthes oleracea* pourrait être due à une synergie entre ses différents constituants solubles dans l'eau.

Les pourcentages en eau de nos échantillons, mesurés par les méthodes gravimétrique et volumétrique, sont respectivement de 5,04% et de 6 %, donc inférieurs à 10%. Ces résultats montrent non seulement un bon séchage des échantillons, mais prouvent aussi une bonne aptitude à la conservation, évitant ainsi le risque de développement de micro-organismes et de dégradation des principes actifs de la drogue.

Les pourcentages de cendres totales et de cendres sulfuriques confirment la richesse de la drogue en substances minérales, comme cela avait été signalé dans les études chimiques antérieures. Il faut aussi signaler que les échantillons de capitules de *Spilanthes* proviennent de champs expérimentaux de l'IPR, où l'on utilise des engrais, qui entraînent une augmentation des cendres. Le pourcentage de cendres insolubles dans HCl à 10% nous fait penser à la présence d'éléments siliceux ou de terre dans les échantillons objets de nos études. Pour diminuer ce taux nous recommandons de faire sécher les capitules de *Spilanthes* à l'abri de la poussière.

L'extraction à chaud nous a permis d'obtenir des substances extractibles par l'éther et par l'éthanol riches en Spilanthol, C'est ainsi que nous constatons que les pourcentages de substances extractibles par l'éther contenus dans les capitules de *Spilanthes* sont différents de ceux obtenus précédemment, au DMT ou dans la littérature scientifique. Une explication pourrait être fournie par les origines des échantillons et les périodes de récolte, puisque le contenu de ces substances dans les capitules de *Spilanthes* varie beaucoup en fonction de celles-ci.

CONCLUSION

Au terme de ce travail nous avons pu passer en revue l'état des connaissances sur *Spilanthes oleracea*, vérifier sa composition chimique, déterminer une procédure d'extraction par l'éther éthylique et proposer une méthode de contrôle de qualité des extraits riches en Spilanthol par chromatographie sur couche mince.

La quantité de principes actifs hydrosolubles nous confirme la pertinence de la formulation traditionnelle, la décoction du Malarial comme antipaludique. Il faut surtout penser à une synergie entre les différents constituants solubles dans l'eau dans l'activité globale de l'extrait plutôt qu'à l'action d'un seul principe actif.

Il est cependant nécessaire pour le contrôle de qualité du Malarial par dosage ou par chromatographie de pouvoir le faire par rapport à des principes actifs purs témoins. Ceci est très important pour mieux différencier le Malarial du *Spilanthes*, qui est une plante cultivée, donc très difficile à trouver par tous les préparateurs de ce médicament..

Nous espérons que notre travail a contribué à faire apparaître quelques éléments de contrôle de qualité des capitules de *Spilanthes oleracea*. Ceci est très important pour la production d'un Médicament Traditionnel Amélioré plus efficace et accessible, utilisable dans le traitement du paludisme qui reste encore aujourd'hui le principal problème de santé publique au Mali.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) AKERERELE O (1990) : « WHO and traditional medicine: an overview ». Actes du Premier Colloque Européen d'Ethnopharmacologie, 22-25 Mars 1990, Metz (France).
- 2) ANONYME (1985) : Chemical Abstract, 103, 109, 785 f.
- 3) ANONYME (1985) : Chemical Abstract, 103, 59, 114p.
- 4) BOUARE, A (1997) : « Etude comparée de l'influence de diverses fumures sur la biologie de *Spilanthus oleracea* Jacq et sur la concentration du spilanthol contenu dans les capitules ». Mémoire de Fin de Cycle, IPR / IFRA, Katibougou.
- 5) CROMBIE L., KRASINSKI H.A., MANZOOR I., KHUDA M. (1963) : « Amides of vegetable origin - Part X - The stereochemistry and synthesis of affinin ». Journal of chemistry society, 4070-4976.
- 6) DORVAULT F. (1982) : « L'officine ». XXIème édition, Ed. Vigot, Paris.
- 7) GASQUET M., DELMAS F., TIMON - DAVID P., KEITA A., GUINDO M., KOITA N., DIALLO D., DOUMBO O. (1993) : « Evaluation in vitro and in vivo of a traditional Malarial 5 » Fitoterapia, vol XIX N°5, 423 - 426.
- 8) GOKHALE, V.G. BHIDE, B.V. (1945) : « Chemical investigation of *Spilanthus acmella* ». Journal of indian chemical society, 22, 250-252.
- 9) GREGER H., HOFER, O., WERNER A. (1985) : « New amide from *Spilanthus oleracea* ». Monatshefte für chemie, 273-277.
- 10) HOFFMANN O., ENGLER A, PRANTL K (1890-1894) : « Compositae in die natürlichen Pflanzenfamilien ». Tome 4". Ed. Verlag von Vihelm, Leipzig
- 11) IMBESI A.(1964): « Index plantarum », Messine.
- 12) INDEX KEWENSIS

- 13) JACOBSON M. (1954) : « Constituents of Heliopsis species. III – cis-trans – Isomerism in affinin » Journal of American chemical Society, 76, pp 4606-4608.
- 14) JACOBSON M. (1957) : « The structure of spilanthol » Chemistry and Industry pp 50-51.
- 15) JACOBSON M., CROSBY D.G.(1971) : « Naturally occurring insecticides. The insaturated isobutylamides ». Ed. Marcel Dekker, New York.
- 16) JELLAL A., LEMERRE S., MICHOT P., OGER R. RABILLER P. (1998) : « Le *Spilanthos* » Projet de recherche ENESAD, UFITAFI 2^{ème} année de Dijon – Promotion 1996 – 1999.
- 17) KAKA D. (1996) « Influence du mode de reproduction et de la dose d'arrosage sur le taux de Spilanthol des capitules de *Spilanthos oleracea* Lin ». Mémoire de fin d'études, Diplôme d'Ingénieur Agronome, IPR/IFRA – Katibougou.
- 18) KEITA, A, DOUMBO, O KOITA, N DIALLO, D. GUINDO, M., TRAORE, A.K. (1990) : « Recherche expérimentale sur un antimalarique traditionnel ». Bull. Med. Trad. Pharm, Vol. 4, n° 2, 139-146.
- 19) KEITA A., TRAORE M., DIARRA N., DEMBELE I, LANDOURE, M.B. (1999) : « Influence de l'apport en fertilisant et de la période de récolte sur la teneur en Spilanthol dans les capitules de *Spilanthos oleracea* Jacq. (Asteraceae) », DMT *in press*.
- 20) KERHARO J., ADAM J.D.(1974) : « Pharmacopée sénégalaise traditionnelle ». Ed. Vigot Frères, Paris.
- 21) KONE O. (1997) : « Dynamique du système racinaire du *Spilanthos oleracea* Jacq en vue de l'évaluation de la dose d'arrosage ». Mémoire de fin d'études, Diplôme d'Ingénieur Agronome, IPR/IFRA – Katibougou.
- 22) LANSARD S. M. (1997) : « Contribution à la détermination des conditions optimales de germination de *Spilanthos oleracea* Jacq en pépinière dans la zone de Katibougou ». Mémoire de fin d'études, Diplôme d'Ingénieur Agronome, IPR/IFRA, Katibougou.
- 23) RICHARD A (1996) : « *Spilanthos* <http://b-and-t-world-seeds> ».Com/horizon.htm.

- 24) ROBINSON H. (1981) : « A revision of the tribal and subtribal limits of the *Heliantheae* (Asteraceae) » *Smithsonian contributions to botany*, 51.
- 25) TREVISSON C. (1998) : « *Spilanthes acmella* Murr (Asteraceae) ». Thèse de Doctorat en Pharmacie – Université Paul Sabatier, Toulouse – France.
- 26) VERYKOKIDOV VITASAROPOULOS E., BECKER H. (1983) : « Flavonoïde ans *Spilanthes Oleracea* Jacq ». *Archiv. Der pharmazie*, 316, 815-816.
- 27) WATT J.M., BREYER – BRANDJIWICK M.G. (1962) : « The medicinal and poisonous plants of southern and eastern africa » – 2^{ème} édition Ed. E. et S. Livingstone, Edimburg and London.
- 28) WHO (1996) : « World malaria situation in 1993 », *Weekly Epidemiological Record*, 3, 17-22; 4, 25-29; 5, 37-39, 6, 41-48.
- 29) WHO (1978) : « Primary health care », Report of the international conference on primary health care, Alma Ata USSR, 6-12 September 1978, Geneva, "Health for all" Series N° 1.

RESUME

Nom: BOCOUM épouse LANDOURE

Prénom : Mariam

Titre de la thèse : Contribution à l'étude phytochimique de
Spilanthes oleracea Jacq

Année : 1999-2000

Lieu de soutenance: Bamako

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la Faculté de Médecine de
Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie

Secteur d'intérêt: Médecine Traditionnelle

Résumé:

Après une recherche bibliographique qui nous a permis de répertorier les données agronomiques, botaniques, chimiques et pharmacologiques et les utilisations en médecine traditionnelle, nous avons effectué le contrôle de qualité de la matière première de la drogue de *Spilanthes oleracea* Jacq.

Nos travaux personnels, centrés sur les capitules du *Spilanthes oleracea* Jacq, nous ont permis de confirmer la présence de certains constituants chimiques de la plante, de connaître ses teneurs en eau, en cendres, en alcaloïdes, en flavonoïdes et tanins, et substances extractibles par éther riche en Spilanthol.

Nous avons effectué un contrôle de qualité des extraits riches en ce principe actif par chromatographie sur couche mince.

Mots clés: *Spilanthes oleracea* Jacq, Contrôle de qualité, Spilanthol, Médecine Traditionnelle

ANNEXES

PALUDISME ET MEDECINE ET PHARMACOPEE TRADITIONNELLE

Introduction

En Afrique, les médicaments à base de plantes constituent l'essentiel de la pharmacopée traditionnelle. Des raisons économiques et socioculturelles favorisent le recours à l'usage, toujours plus important, des ressources de la pharmacopée traditionnelle. Avec les crises économiques et la dévaluation du franc CFA, les structures sanitaires, de même que les médicaments, sont devenus plus difficilement accessibles, malgré la mise en œuvre de politiques pharmaceutiques nationales assurant la promotion des médicaments génériques et le déconditionnement des produits par les pharmaciens. La médecine traditionnelle demeure donc l'élément indispensable pour la prise en charge effective de la santé des populations.

L'efficacité thérapeutique de nombreux médicaments à base de plantes a été prouvée, tant par les pratiques anciennes que par des études scientifiques de pointe. Dans le cadre de la lutte contre la malaria, le Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) du Mali a mené de nombreuses recherches. Deux axes ont été priorisés :

- La recherche de l'activité anti plasmodium,
- La lutte anti-vectorielle.

1) Activité anti plasmodium des plantes médicinales du Mali

De nombreuses études ont été effectuées au Département Médecine Traditionnelle. On peut citer, entre autres :

- Une étude sur le traitement traditionnel du paludisme (1985)
- Une étude sur les plantes réputées antipaludiques au Mali (1997).

Ces études ont abouti à la mise au point d'une recette à base de trois plantes, le **Malarial**, vendu en officine à Bamako. La plante responsable de l'activité schizonticide, *Spilanthes oleraceae* (Asteraceae) a fait l'objet d'études en vue d'améliorer les conditions de culture et la teneur en principe actif, en collaboration avec l'Institut Polytechnique Rural de Katibougou.

Des études scientifiques de pointe sur deux plantes traditionnellement utilisées au Mali, *Mitragyna inermis* et *Glinus oppositifolius*, sont en voie de finalisation. Les travaux de recherche préliminaires ont déjà montré des activités intéressantes.

Ces travaux ont été menés en collaboration avec le Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) du Professeur Ogobara DOUMBO et avec la Faculté de Pharmacie de Marseille (Pr. Guy BALANSARD). Les résultats pourront être présentés par le Pr. DOUMBO, co-auteur des articles scientifiques déjà publiés sur ces travaux. Le DMT est actuellement à la recherche de financements afin de pouvoir passer à la deuxième étape de la recherche, qui portera sur l'étude clinique.

2) Lutte anti-vectorielle

Des recherches sur l'activité larvicide des plantes médicinales maliennes ont été initiées en collaboration avec les universités norvégiennes, dans le cadre du Programme SSE. L'activité de quelques plantes de notre patrimoine végétal a été testée sur des larves d'*Anopheles gambiae*, vecteur du paludisme et de la filariose de Bancroft en Afrique de l'Ouest.

PLAN

- I) Conception et traitement traditionnel du paludisme
- II) Quelques recettes traditionnelles du traitement du Sumaya
- III) Apport de la recherche : le Malarial 5, Sumakala
- IV) Etude de l'activité larvicide de quelques plantes médicinales du Mali sur les larves d'*Anopheles gambiae* ss
- V) Difficultés
- VI) Facteurs – clés de réussite

I. CONCEPTION ET TRAITEMENT TRADITIONNELS DU PALUDISME

Le paludisme est bien connu en Médecine Traditionnelle. Il est défini par les termes «**Suma**» ou «**Sumaya**». Ces termes englobent un ensemble de maladies qui correspondent au paludisme, à l'ictère et à l'anémie. Ces termes peuvent s'étendre à d'autres affections (drépanocytoses par exemple).

L'étiologie est surtout alimentaire, mais elle peut aussi être due aux mouches ou aux moustiques, au sorcier (kônô), au manque d'hygiène.

Le diagnostic repose sur l'observation des signes cliniques. Les techniques divinatoires, géomancie, cauris, permettent aux thérapeutes de connaître l'issue de la maladie. Des consultations préalables permettent aux thérapeutes d'expliquer la maladie et les moyens de la guérir.

Selon les signes, les thérapeutes distinguent quatre (4) types de «**Sumaya**»

- Le «**Suma**» ou «**Sumaya**», qui se manifeste par des céphalées, frissons, fièvre, nausées et vomissements correspond à l'accès palustre.
- Le «**Saye bilen**», avec coloration jaune des yeux, urines et paumes des mains correspond à l'ictère, ou jaunisse.
- Le «**Saye jè**», avec asthénie prononcée et pâleur, est l'anémie.
- Le «**Kônô**», avec convulsions et perte de connaissance, observé surtout chez les enfants, correspond à l'accès pernicieux.

Ces quatre (4) types sont classés en deux groupes :

- Le «**Suma**» ou «**Sumaya**» : suma et kônô,
- Le «**Suma kogolen**» : Saye bilen et Saye jè.

Le traitement du «**Sumaya**»

Il est basé essentiellement sur l'utilisation de recettes et d'incantations. Les recettes sont généralement à base de plantes et quelquefois de produits animaux. La préparation se fait par macération, infusion ou décoction des plantes ou de parties de plantes dans l'eau. La recette est administrée en boisson, en bain corporel, en bain de vapeur ou en fumigation.

Le traitement fait aussi appel à la puissance du verbe : incantations et contexte magico-religieux et mystique, où les notions de fétiches, magie et sorcellerie sont intimement liées et s'interpénètrent.

II. QUELQUES RECETTES TRADITIONNELLES DU TRAITEMENT DU «SUMAYA»

Ces recettes sont les résultats d'enquêtes réalisées dans le Baya (arrondissement de Kangaré), dans les villages de Kangaré, Sanankoroni, Dialakoro et Sélingué.

Objectifs :

- Identifier et recenser les tradipraticiens spécialisés dans le traitement du «Sumaya» ;
- Décrire les attitudes thérapeutiques devant un cas de «Sumaya» ;
- Donner les caractéristiques botaniques et bioécologiques des différentes plantes utilisées.

Méthodologie :

- Entretiens personnalisés et répétés avec les guérisseurs ;
- Sorties sur le terrain pour voir les techniques de récolte et constitution d'herbiers ;
- Assistance au traitement des malades ;
- Consignation des données sur fiche d'enquête.

NOM SCIENTIFIQUE ET FAMILLE	NOMS BAMANAN ET INDICATIONS	PARTIE UTILISEE	FORME D'UTILISATION TRADITIONNELLE
<i>Trichilia roka</i> MELIACEAE	Soulaifinzan, Warabilen ka wôró Suma, Suma kogolen	Feuilles, Racines	- Poudre en macération dans l'eau pendant une heure, Poudre de racines dans le lait, Poudre associée à d'autres plantes, dans du miel.
<i>Cassia sieberiana</i> CAESALPINACEAE	Sindian Suma, Suma kogolen	Racines, Feuilles	- Poudre de racines dans le lait, Feuilles en décoction, Poudre associée à celle de <i>Trichilia roka</i> et <i>Nauclea latifolia</i> en infusion dans l'eau. - Poudre de feuilles en décoction dans l'eau.
<i>Mitrogyne inermis</i> (Willd) O. Ktze RUBIACEAE	Jun Kônô	Feuilles	- Poudre de racines dans du lait frais
<i>Calotropis procera</i> ASCLEPIADACEAE	Fogon fogon Sumaya kogolen	Racines	- Poudre d'écorce en macération dans l'eau.
<i>Prosopis africana</i> MIMOSACEAE	Gwelé	Ecorce de tronc	- Poudre de racines et de feuilles en infusion dans l'eau.
<i>Terminalis macroptera</i> COMBRETACEAE	Suma, Suma kogolen Wôloba, Wolobiten	Feuilles, Racines	- Ecorce fraîche en macération dans l'eau. - Poudre d'écorce en infusion dans l'eau.
<i>Nauclea pobegutii</i> RUBIACEAE	Sumaya kogolen	Ecorce de tronc	- Poudre de feuilles en décoction dans l'eau.
<i>Khaya senegalensis</i> MELIACEAE	Kôbadi / Suma Jala / Suma	Feuilles, Racines	- Infusion du broyat d'écorce fraîche dans l'eau.
<i>Nauclea latifolia</i> RUBIACEAE	Geren badi Sumaya kogolen	Ecorce de tronc	- Infusion de poudre de racines et d'écorce dans l'eau.
<i>Parkia biglobosa</i> MIMOSACEAE	Nèrè Sumaya kogolen	Racines, Ecorce de tronc	- Décoction de feuilles en boisson dans l'eau. - Décoction de feuilles dans l'eau.
<i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> RUTACEAE	Wô	Feuilles	- Décoction de la poudre dans l'eau.
<i>Bombax costatum</i> BOMBACACEAE	Suma, Suma kogolen Bumbun Suma, Kônô	Feuilles	- Décoction de feuilles fraîches dans l'eau. - Décoction de feuilles fraîches dans l'eau, en bain et per os
<i>Entada africana</i> MIMOSACEAE	Samanèrè Sumaya kogolen	Feuilles	- Poudre de racines en infusion dans l'eau.
<i>Argemone urexiana</i> PAPAVERACEAE	Saye baga / Sumaya	Plante entière	
<i>Vernonia colorata</i> ASTERACEAE	Ko safuna / Sumaya	Feuilles	
<i>Anogonissus leiolepis</i> COMBRETACEAE	N'Galama / Sumaya	Feuilles	
<i>Cochlospermum tinctorium</i> COCHLOSPERMACEAE	Nitiribara Sumaya	Racines	

RECETTES D'ORIGINE ANIMALE

- Chair de serpent : python dans le Sumaya Kogolen : manger la viande bien cuite pendant trois (3) jours.
- Chair de singe rouge : même préparation, même durée.
- Chair de perdreau, même préparation, même durée.

III. APPORT DE LA RECHERCHE : LE MALARIAL 5, SUMAKALA

Le Malarial est un Médicament Traditionnel Amélioré. Il est présenté en paquet de 11 sachets unidoses de 10 grammes. C'est un mélange de poudre de trois plantes :

- *Cassia occidentalis* : M'balan mbalanfing , faux kinkeliba, (Cesalpinoaceae)
- *Lippia chevalieri* : Kanibadjan, thé de Gambie, (Verbenaceae)
- *Spilanthes oleraceae* : Farimani, (Asteraceae)

Propriétés :

Schizonticides (*Spilanthes oleraceae*)

Fébrifuges (*Cassia occidentalis*)

Posologie :

- Adulte et enfant de plus de 12 ans : Un (1) sachet 2 fois par jour, pendant les quatre (4) premiers jours du traitement puis Un (1) sachet par jour, pendant trois (3) jours.
- Enfant de 5 à 12 ans : ½ de la dose adulte.

Préparation :

Faire bouillir la quantité prescrite pendant 10 minutes, ajouter une tranche de citron sans graine. Filtrer et sucrer à volonté, pour les non diabétiques.

OBJECTIFS DE LA RECHERCHE :

- Généraux :

- Contrôler l'efficacité de cette préparation ;
- Proposer, à partir des produits locaux, un médicament peu cher contre le paludisme.

- Spécifiques :

- ✓ Comparer l'efficacité du Malarial 5 par rapport à la chloroquine phosphaté par des critères biologiques, GE et frottis, et des critères cliniques, température, céphalées ;
- ✓ Vérifier l'existence ou non d'effets secondaires ;
- ✓ Calculer la baisse de la parasitémie journalière .

Méthodologie :

- **Lieu de la recherche** : Centre de formation et de recherche en santé rurale (Sélingué).
- **Période** : juillet à octobre (période de haute transmission du paludisme).
- **Echantillonnage** : 120 patients, Malarial : 60, Chloroquine : 60.
- **Critères d'inclusion** :
 - Sujets d'au moins 5 ans (sauf femmes enceintes) ;
 - Parasitémie supérieure ou égale à 5000 P/mm₃
- **Critères d'exclusion** :
 - Enfants de moins de 5 ans
 - Femmes enceintes
 - Altération de l'état général
 - Troubles digestifs graves : diarrhées et vomissements.

RESULTATS

- Intéressante activité symptomatique sur les signes cliniques du paludisme : céphalées et fièvre. Réduction considérable des céphalées dès J1.
- Baisse de la parasitémie. Cependant, la parasitémie n'est pas totalement négativée.
- Pas d'effets allergisants par rapport à la chloroquine.

Il faut aussi signaler qu'un travail préliminaire avait permis de montrer que le Malarial ne présentait pas de toxicité animale après administration aux souris pendant 7 jours.

Ces résultats nous ont mené à une autre étude : Evaluation de l'activité antimalarique in vitro et in vivo d'un remède traditionnel, le Malarial 5.

**ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIMALARIQUE IN
VITRO ET IN VIVO D'UN REMÈDE TRADITIONNEL
LE « MALARIAL 5 »**

Résumé :

Le Malarial 5 est une mixture de trois plantes (*Cassia occidentalis*, *Lippia chevalieri*, *Spilanthes oleracea*), utilisé en décoction pour son activité antimalarique. Dans le but d'élever l'efficacité de la préparation galénique, nous avons fait l'expérimentation in vitro avec le plasmodium falciparum, et en essai in vivo avec le plasmodium berghei pour quantifier l'activité antimalarique du Malarial 5 et chacune de ses trois composantes.

La IC 50 de la décoction de Malarial 5 et celle du *Cassia occidentalis* étaient similaires respectivement de 500 et 700 µg/ml. La IC 50 du *Lippia chevalieri* et du *Spilanthes oleracea* étaient plus basses 200 à 400 µg/ml.

In vivo les souris traitées avec 200 mg/kg de décoction de *Lippia chevalieri* du Malarial 5 pendant 5 jours ont survécu 2 à 3 jours de plus, par rapport au groupe de contrôle. L'essai in vitro a montré que l'activité antimalarique du *Cassia occidentalis* est la plus faible.

(Mots clés : Malarial 5, *Cassia occidentalis*, *Lippia chevalieri*, *Spilanthes oleracea*, activité antimalarique).

Le Malarial 5 est une recette de la pharmacopée traditionnelle africaine composée de trois plantes : *Cassia occidentalis*, *Lippia chevalieri*, *Spilanthus oleracea*. Ces trois plantes ont été utilisées séparément en Médecine Traditionnelle (1). Le Malarial 5 est produit par le Département de Médecine Traditionnelle / INRSP du Mali. Il est consommé en décoction. Les patients traités au Malarial 5 se sentent mieux : après 48 heures, les signes cliniques tels que température et maux de tête s'améliorent et la parasitémie diminue, sans pour autant disparaître totalement.

Nous avons quantifié l'activité antimalarique dans le but d'améliorer sa préparation galénique. Nous avons effectué un essai in vitro sur deux souches de *plasmodium falciparum* et un essai in vivo sur des souris expérimentales infestées avec le *plasmodium berghei*.

Expérience

Composition du Malarial 5

Le Malarial 5 est une mixture de poudre de feuilles de *Cassia occidentalis* et de *Lippia chevalieri* collectées au mois de Mai dans la nature et de capitules des fleurs du *Spilanthus oleracea* collectés dans le jardin expérimental de plantes médicinales du Département de Médecine Traditionnelle à Bamako.

Les plantes étaient séchées à l'abri du soleil dans une maison à la température ambiante. Les feuilles de *Cassia occidentalis* étaient écrasées et vannées, les feuilles de *Lippia chevalieri* et des capitules de fleurs de *Spilanthus oleracea* étaient pilées, la poudre obtenue était mélangée dans les proportions suivantes :

Cassia occidentalis 64 %
Lippia chevalieri 32%
Spilanthus oleracea 4 %

Le Malarial 5 est ensuite conditionné dans des paquets de 10 grammes.

Préparation de l'extrait lyophilisé

Comme le Malarial 5 est utilisé en décoction en médecine traditionnelle, les essais antimalariques étaient faits avec les décoctions de Malarial 5 et de chacune des poudres obtenues de ces trois plantes le composant. 10 grammes de chaque poudre étaient traités avec un litre d'eau distillée chauffée, puis refroidie, filtrée et le filtrat lyophilisé.

Les extraits lyophilisés étaient dissous dans le milieu de culture du *Plasmodium falciparum*, (RPHI 1640 sigma + 10% de sérum humain) stérilisé avec le filtre millipore (0,45 μ), pour évaluer leur activité antimalarique in vitro.

Pour déterminer l'activité antimalarique in vivo, nous avons dissous les extraits dans l'eau (20 mg/ml), avant de les administrer per os aux souris expérimentales infestées avec le *plasmodium berghei*.

Les animaux et parasites de laboratoire

Les essais in vitro ont porté sur deux souches de *plasmodium falciparum* : FCC2 sensible à la chloroquine venant du Niger et FZR résistante à la chloroquine venant des Comores. Les souches étaient maintenues en culture continue par la méthode de Trager et Jensen (2,3).

Les essais in vivo étaient faits sur des souris *Mus musculus* OF1, infestées avec le *plasmodium berghei* selon la technique de Peters (4)

Les souris étaient maintenues dans les mêmes conditions de façon isolée, une souris par cage et nourries avec « totaliment ».

Tests Antiparasitaires

Technique expérimentale in vitro

Pour évaluer l'activité antimalarique des différents extraits in vitro, nous avons mesuré l'inhibition de la prolifération du *plasmodium falciparum* en culture continue selon la technique de Trager et Polonoky (5). Les érythrocytes parasités étaient mis dans le milieu de culture avec une concentration déterminée de l'extrait. Chaque concentration était testée trois fois. Dans chaque boîte nous avons effectué trois contrôles contenant des érythrocytes parasités sans Malarial 5, pour obtenir le plus haut niveau de parasitémie. Après 48 heures d'incubation nous avons quantifié la parasitémie dans chaque boîte à l'aide d'un microscope optique.

Les résultats ont été donnés en pourcentage de prolifération avec référence de contrôle. On a fait un graphique de corrélation entre les pourcentages et les différentes concentrations testées pour déterminer la IC 50 des poudres.

Nous avons déterminé la sensibilité des deux souches de *plasmodium falciparum* à la chloroquine par la même technique.

Test Antiparasitaire in vivo :

Les souris étaient infestées par la voie intrapéritonéale avec 50µl de sang contenant 2.10 d'érythrocytes parasités par le plasmodium berghei. Les extraits lyophilisés de Malarial 5 : *Cassia occidentalis*, *Lippia chevalieri*, *Spilanthes oleracea*, étaient dissous dans l'eau (20mg/ml) chaque essai était effectué sur 10 souris.

Le traitement a commencé à partir du jour où les souris étaient infestées et pendant 5 jours. Les souris ont reçu une dose de 200mg/kg per os par jour. L'activité de la décoction sur les souris était évaluée chaque jour par la détermination de la parasitémie sur les prélèvements sanguins en fonction de la technique Osdeno (6) par les mesures du temps de survie des souris traitées et des souris de contrôle.

Résultats

In vitro, les concentrations élevées de décoction lyophilisées avaient une activité antimalarique. Leur IC50 étaient respectivement (tableau 1,2) :

	Souche FCC2 IC 50	Souche FZR IC 50
Malarial 5	0.60 mg/ml	0.47 mg/ml
<i>Cassia occidentalis</i>	0.66 mg/ml	0.58 mg/ml
<i>Lippia chevalieri</i>	0.30 mg/ml	0.38 mg/ml
<i>Spilanthes oleracea</i>	0.18 mg/ml	0.20 mg/ml

L'activité antimalarique de chaque plante était la même sur les souches sensibles et celles résistantes. L'activité de la décoction du Malarial 5 et du *Cassia occidentalis* était similaire. Les décoctions des deux autres plantes étaient plus actives. *Lippia chevalieri* était deux fois plus active et *Spilanthes oleracea* trois fois plus active que malarial 5. Dans les mêmes conditions expérimentales la IC 50 de la chloroquine était 0,03µg/ml sur les souches FCC2 et 0,27µg/ml sur les souches FZR.

In vivo, la parasitémie était quantifiée par jour chez les souris infestées traitées et chez les souris de contrôle. L'évolution de la parasitémie chez les souris traitées avec les décoctions de *Cassia occidentalis*, *Lippia chevalieri*, *Spilanthes oleracea* étaient similaires à celle du Malarial 5. Aucune des souris traitées n'a été guérie. Cependant la parasitémie était faible (tableau 3). Les souris traitées ont survécu de 2 ou 3 jours de plus que les souris de contrôle.

L'utilisation de la chloroquine à la dose de 60 mg/kg per os pendant 5 jours a permis de guérir les souris infestées.

Conclusion

L'activité antimalarique du Malarial 5, qui était utilisé au Mali en médecine traditionnelle, a été confirmée par les essais in vitro de culture de *Plasmodium falciparum*. L'activité antimalarique de la décoction du Malarial 5 était la même chez les souches résistantes et celles qui étaient sensibles. Les souches résistantes à la chloroquine ne le sont pas au Malarial 5.

Dans les conditions expérimentales in vivo, avec des souris infestées par le *Plasmodium berghei* et traités par les différentes décoctions, nous avons noté une baisse plus lente de la parasitémie, et un temps de survie de 2 à 3 jours de plus par rapport aux souris de contrôle.

Pour améliorer l'activité antipaludique du Malarial 5, nous suggérons une modification de la composition du mélange par augmentation du pourcentage de *Lippia chevalieri* et *Spilanthes oleracea*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- Rapport A.C.C.T. (Agence de Coopération Culturelle et Technique), Médecine Traditionnelle et Pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques du Mali, 1985.

2- Trager W., Jensen J.B., *Science* 193, 673 (1976).

3- Trager W., Jensen J.B., *Am J. Trop. Méd. Hyg.* 27, 743 (1978).

4- Peters W., *Exp. Parasti.* 16, 158 (1965).

5- Trager W., Polonsky J., *Am. J. Trop. Méd. Hyg.* 30, 531 (1981).

6- Osdene T.S., Russel P.P., Rane L.J. *Méd. Chem.* 10, 431 (1967)

IV. ETUDE DE L'ACTIVITE LARVICIDE DES QUELQUES PLANTES MEDICINALES SUR LES LARVES D'ANOPHELES GAMBIAE SS

METHODOLOGIE

Nous avons effectué les travaux au laboratoire de la Division Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), à partir de novembre 1998, sur des larves d'*Anopheles gambiae*.

1. Matériel végétal : Extraits de plantes

Dans cette étude, nous avons utilisé différents types d'extraits de plantes pour la réalisation des tests biologiques. Les drogues (écorces, feuilles et racines) étaient à la température du Laboratoire de Médecine Traditionnelle de l'INRSP. Les drogues séchées ont été pilées et tamisées pour obtenir une poudre fine. Le tableau ci-dessous donne le nom scientifique, la famille, la partie utilisée, le type d'extrait des plantes testées (32 extraits au total).

2. Tests biologiques : Les larves d'*Anopheles gambiae* ss

Pour la réalisation des tests biologiques, nous avons utilisé des larves *Anopheles gambiae* ss, forme Mopti de 2^{ème} et 3^{ème} génération, issues de pontes collectives des femelles de colonie du laboratoire.

Technique du test biologique

- Peser 5,5 mg d'extrait ;
- Dissoudre les extraits méthanoliques et de dichlorométhane dans 110 µl de DMSO (diméthylsulfoxyde) ;
- Dissoudre l'extrait aqueux dans 110 µl d'eau distillée ;
- Mettre dans les tubes à essai de 15 ml 5 ml d'eau de puits ;
- Ajouter 20 larves ;
- Ajouter 100 µl d'une solution d'extrait, compléter à 10 ml ;
- Bien agiter pour mélanger les deux parties ;
- Laisser à la température ambiante et déterminer le nombre de morts aux temps suivant : 30 mn, 1 heure et 24 heures.

A chaque test, nous avons utilisé un témoin constitué de 20 larves dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau de puits. Pour chaque concentration, nous avons réalisé 5 fois le test. Nous avons considéré comme larves mortes celles qui étaient immobiles et tombées au fond du tube à essai. L'observation était faite à l'œil nu.

3. Analyse des données :

Les données ont été saisies sous Epi info *version 6*. L'analyse statistiques des données est effectuée par le test du Chi-carré (Chi-2). Nous avons effectué une analyse descriptive des résultats puis une analyse statistique des données.

Une mortalité dans les témoins inférieure à 5% est négligeable, mais lorsqu'elle dépasse 20%, elle invalide le test. Quand elle est comprise entre 5 et 20%, elle nécessite une correction par la formule d'Abott qui est la suivante :

$$\text{Mortalité corrigée (en \%)} = \frac{\text{Mortalité brute (\%)} - \text{Mortalité témoin (\%)}}{\text{Mortalité témoin (\%)}} \times 100$$

**PRESENTATION DES DIFFERENTS EXTRAITS DE PLANTES
UTILISES POUR LE SCREENING BIOLOGIQUE**

FAMILLE NOM SCIENTIFIQUE ET BAMANAN	PARTIE UTILISEE	TYPE D'EXTRAIT
Anacardiaceae <i>Lannea velutina</i> A. Rich Bakoro peku	- écorce de tronc - feuilles - racines	MeOH DCM MeOH H ₂ O DCM
Araliaceae <i>Cussonia barteri</i> Bolokuruni	- racines	DCM MeOH H ₂ O
Asteraceae <i>Vernonia kotschyana</i> Sch. Bip Buayè	- feuilles	Acétonique (CH ₃) ₂ CO EtOH Fraction étherée (Extrait MeOH) H ₂ O
Combretaceae <i>Pteleopsis suberosa</i> Engl. et Diels Téréni	- écorces de tiges	H ₂ O EtOH
Ebenaceae <i>Diospyros abyssinia</i> (Hiern) F. White Sunsun ?	- feuilles	EtOH H ₂ O
Flacourtiaceae <i>Flacourtia flabescens</i> Forsk Sama nyin	- feuilles	EtOH H ₂ O
Hyperiaceae <i>Psorospermum guineense</i> (L.) Hocher Kari jakuma	- feuilles	H ₂ O EtOH
Lythraceae <i>Lawsonia enermis</i> Jabi	- feuilles	EtOH Acétonique H ₂ O
Mimosaceae <i>Entada africana</i> Guill. et Perr. Samanère	- racines	MeOH DCM BuOH(fraction)
Rhamnaceae <i>Ziziphus mauritania</i> Lam Tomonon	- racines	Acétonique Éthéré (Et ₂ O) H ₂ O
Vitaceae <i>Cissus quadrangularis</i> L. Wulu joloko	- tiges	CHCl ₃ MeOH H ₂ O

CONCLUSION

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter notre contribution à une meilleure connaissance des propriétés larvicides des extraits de certaines plantes de notre patrimoine végétal sur les larves d'*Anopheles gambiae* ss.

A la suite du screening réalisé avec les 32 extraits de plante sur les deux espèces de larves, les extraits (Dichlorométhane des feuilles de *Lannea velutina*, Dichlorométhane des feuilles de *Cussonia barteri*, Méthanolique des feuilles de *Diospiros abyssinica*, étheré de *Cissus quadrangularis*) ont une mortalité de 100% après 24 heures d'exposition à 500 ppm.

A la suite du 2^{ème} screening réalisé à différentes concentrations (250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm et 31,25 ppm) avec ces extraits actifs, l'activité larvicide de l'extrait dichlorométhane des feuilles de *Lannea velutina* s'est nettement dégagé avec une mortalité de 100% après 24 heures d'exposition à 250 ppm.

RESULTATS DES TESTS DES EXTRAITS BRUTS DES DIFFERENTES PARTIES DE PLANTES SUR LES LARVES D' ANOPHELES
 GAMBIAE SS. (MORTALITE EN POURCENTAGE)

Extrait	Lve	Lvf	Cb	Daf	Lvr	Lve	Lvf	Cb	Cb	Ps	Ff	Ps	Pg	Pg	Ff	Lvr	Témoin
	MeOH	DCM	DCM	MeOH	H2O	DCM	MeOH	MeOH	H2O	H2O	EtOH	EtOH	EtOH	H2O	H2O	DCM	DCM
Après 30 mn	0	50	55	45	90	80	85	75	90	35	70	75	5	95	90	85	0
Après 1 h	5	70	90	80	90	80	90	80	90	50	90	80	10	95	90	95	0
Après 24 h	60	100	100	100	95	100	100	100	95	55	100	100	40	95	100	100	0

On peut constater que Lvf DCM, Cb DCM et Daf MeOH ont montré une activité maximale après 24 heures d'exposition. Après 1 heure d'exposition, l'activité de ces extraits est déjà très au-dessus de la moyenne.

Lv : *Lannea velutina* Ps : *Pteleopsis suberosa* Cb : *Cussonia barteri* Ff : *Flacourtia flabescens*

Daf : *Diospiros abyssinica* Pg : *Psorospermum guineense*

E : Ecorces F : Feuilles R : Racines

V. DIFFICULTES

Les difficultés que rencontre le Département Médecine Traditionnelle pour atteindre ses objectifs sont de plusieurs ordres :

- **Difficultés financières** : Les ressources financières mises à la disposition du Département sont insuffisantes pour assurer l'approvisionnement régulier en consommables (solvants et réactifs) nécessaires pour l'extraction et la purification des extraits de plantes.
- **Difficultés matérielles** : Le « Laboratoire » du Département Médecine Traditionnelle est un vieux bâtiment. La majorité des installations d'eau et d'électricité est non fonctionnelle. Les portes et fenêtres ne sont pas conformes et la climatisation est inexistante. Les animaux et l'équipement pour la réalisation de certains tests pharmacologiques et de toxicité sont totalement manquants. Le Département, qui n'a pas de moyens modernes de communication (Fax, Email) ne dispose pas d'un véhicule tout terrain pour les enquêtes sur sites et les collectes de plantes médicinales.

VI. FACTEURS-CLES DE REUSSITE

Pour mener à bien ses recherches, le Département Médecine Traditionnelle devrait disposer d'un Centre adéquat et bien équipé et de véhicules pour les enquêtes ethnobotanique et la récolte des plantes. Il devrait aussi pouvoir accéder aisément aux informations scientifiques les plus actuelles et échanger ses expériences avec des structures de même nature à travers le monde. Enfin, les chercheurs du Département devraient avoir accès à la Formation Continue dans leurs domaines de compétence.



Déclaration d'Abuja sur la lutte contre le paludisme en Afrique

Nous, Chefs d'Etat et de Gouvernement des 53 pays d' Afrique, réunis à Abuja au Nigéria le 25 avril 2000

Rappelant la Déclaration d'Hararé du 2 au 4 juin 1997 sur la prévention et la lutte contre le paludisme dans le contexte de la relance économique et du développement de l'Afrique, et de l'initiative africaine sur le paludisme qui est devenue le projet "Faire reculer le paludisme en Afrique" à la fin de l'année 1998,

Conscient des précédentes Déclarations relatives à la santé et au développement adoptés par l'Organisation de l'Unité Africaine,

Reconnaissant que le paludisme constitue un mal et un fardeau économique pour des centaines de millions d' Africains et un obstacle au développement et l'allègement de la pauvreté,

Notant que:

- chaque année, le paludisme est la cause d'environ un million de décès en Afrique,
- neuf sur dix cas de paludisme dans le monde se produisent en Afrique subsaharienne;
- le paludisme a coûté plus de 2 milliards de dollars US à l'Afrique en 1997 et qu'une petite fraction de ce montant suffit pour lutter contre la maladie,
- les personnes les plus touchées sont certains des plus démunis du continent et que le paludisme continue à les maintenir dans la pauvreté.



- une famille vivant dans une zone endémique peut dépenser jusqu'à 25% de son revenu annuel pour la prévention ou des traitements antipaludiques,
- le paludisme a retardé le taux annuel de croissance économique des pays africains de 13 par an, entraînant ainsi une baisse de 37% du PNB en deçà du niveau probable en cas d'absence du paludisme,

Considérant que les possibilités existent pour prévenir, traiter et guérir le paludisme,

Reconnaissant l'engagement des partenaires au développement à améliorer l'état de santé et à promouvoir le bien-être des populations africaines,

Notant la volonté du mouvement de lutte antipaludique à aider les populations à réduire le fardeau que constitue cette maladie

Convaincus de la présente opportunité d'inverser la situation du paludisme en Afrique,

1. **RENOUVELONS NOTRE ATTACHEMENT:**

Aux principes et aux objectifs de la Déclaration d'Hararé de 1997.

2. **EXPRIMONS NOTRE DETERMINATION A DEPLOYER DE SERIEUX EFFORTS EN VUE DE:**

- i) réduire de moitié le fardeau du paludisme en Afrique d'ici l'an 2010, en mettant en oeuvre les stratégies et les mesures convenues lors de la présente Réunion au Sommet et le Plan d'action adopté par la réunion des experts, visant à faire reculer le paludisme,



- ii) prendre des mesures appropriées au niveau de chaque pays pour fournir des ressources destinées à faciliter les objectifs de l'Initiative.
- iii) travailler de concert avec nos partenaires dans les pays touchés par le paludisme en vue de réaliser les objectifs fixés, d'assurer l'octroi des ressources nécessaires par les secteurs public et privé et les organisations non-gouvernementales.
- iv) créer, dans nos pays, un environnement propice à une participation accrue des partenaires internationaux à nos activités de lutte antipaludique.

3. ET CONVENONS DE CE QUI SUIT:

- i) d'entamer des mesures appropriées, abordables et durables en vue de renforcer les systèmes de santé afin que, d'ici l'an 2005:
- ii) d'assurer qu'au moins 60% des paludéens aient accès à et puissent prévaloir d'un traitement adéquat et abordable dans un délais de huit heures après l'apparition des symptômes.
- iii) d'oeuvrer à ce qu' au moins 60% des personnes à risque, surtout les femmes enceintes et les enfants de moins de cinq ans, puissent bénéficier de la combinaison la plus appropriée de mesures de protection personnelle et communautaire (moustiquaires imprégnées d'insecticides et autres équipements pour prévenir l'infection et et les maux.
- iv) d'assurer qu'au moins 60% de toutes les femmes enceintes à risque, surtout les primaires, aient accès à la chimioprophylaxie ou à un traitement intermittent de présomption.



6. DEMANDONS :

au Comité régional pour la région d'Afrique et de la Méditerranée orientale de suivre la mise en oeuvre de cette Déclaration, et en soumettre régulièrement un rapport à l'OUA.

7. DONNONS MANDAT:

au gouvernement nigérian pour faire un compte rendu des conclusions du sommet au prochain sommet de l'OUA afin d'en assurer le suivi en collaboration avec les agences des Nations Unies et d'autres partenaires.

PLAN D'ACTION DE LA DECLARATION D'ABUJA
A. ELEMENTS DU PLAN

DOMAINE PRIORITAIRE	APPROCHES ET ACTIONS
Organisation et gestion du système de santé	<ul style="list-style-type: none"> - Améliorer la capacité de gestion des Ministères de la Santé. Veiller à la mise en place de politiques sanitaire et de programmes intégérés pour la prise en charge et la prévention des maladies prioritaires. - Développer des indices clés pour suivre et évaluer la performance du système de santé. - Promouvoir la décentralisation des systèmes de santé en vue de constituer et de renforcer la capacité de prestation des soins au niveau des quartiers et des communautés - Décentraliser les services de santé de la même que les autres secteurs - Renforcer les partenariats avec les ONG et le secteur privé pour assurer une couverture et un accès de portée universelle accompagnées de complémentarité, de cohérence et de conitnuité des soins ; - Constituer et renforcer les partenariats avec les écoles et les lieux de travail pour améliorer l'accès au traitement du paludisme et aux mesures préventives - Elargir les possibilités de financement des programmes de santé en eau de la communauté pour améliorer l'accès au traitement du paludisme et aux mesures de prévention et les rendre abordables - Renforcer le système de gestion financière existant pour assurer la transparence, l'équité et la probité en matière d'utilisation des fonds au niveau de la communauté - Promouvoir la décentratlisation du système De santé afin de faciliter un meilleur accès aux prestations. - Créer et renforcer les capacités de prestation de santé aux niveaux du district et de la localité

<p>Prise en charge des maladies</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Développer des programmes d'interventions destinées à lutter contre les maladies prioritaires (traitement et prévention) ex. IMCI - Veillez à l'octroi des ressources nécessaires - Faciliter la collaboration de tous les acteurs de l'équipe sanitaire en vue de la prestation de programmes d'intervention prioritaires - Encourager et soutenir les programmes communautaires pour un diagnostic rapide et un traitement rapide et adéquat du paludisme - Améliorer la qualité des diagnostics et des traitement par le biais d'une formation et d'un suivi continu. Fournir des laboratoires en bon état, les structures nécessaires et les médicaments essentiels dans les centres spécialisés - Fournir des programmes de formation et d'information aux établissements scolaires, lieux de travail, parents et surtout aux mères et personnes chargées de prendre soin des enfants, sur les méthodes de reconnaissance du paludisme, d'amélioration des capacités de traitement à domicile et sur le moment de demander de l'aide pour les cas graves - Etablir des lignes directrices pour la prise en charge du paludisme et d'autres maladies prioritaires par le personnel médical à tous les niveaux
<p>Fourniture d'antipaludiques et d'équipements ayant trait à la lutte contre le paludisme</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Développer des mécanismes destinés à assurer une livraison adéquate, ininterrompue et rapide des fournitures, et surtout des médicaments, insecticides et autres équipements ayant trait à la lutte contre le paludisme - Mettre sur pied et mettre à jour des politiques nationales sur les médicaments pour toutes les maladies prioritaires ; veiller à la mise en oeuvre et à la révision de ces politiques dans les secteurs public et privé - Promouvoir la prescription rationnelle des antipaludiques dans les secteurs public et privé. Etablir et renforcer un organisme efficace de contrôle chargé d'examiner toutes les demandes d'enregistrement de médicaments et doté de pouvoirs d'inspection et de mise en application des lois - Soutenir et contribuer à la mise en place et/ou à l'entretien de laboratoires nationaux et régionaux indépendants chargés de contrôler la qualité des médicaments

<p>Prévention des maladies</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Sensibiliser la population et promouvoir les mesures de prévention telles que le dépistage à domicile et l'utilisation de mesures de prévention personnelles - Appuyer et encourager les actions environnementales prises par les foyers et communautés en vue de réduire les points de ponte des moustiques - Soutenir et promouvoir l'utilisation des mesures de prévention du paludisme, telles que la chimioprophylaxie et/ou le traitement intermittent de présomption pour les femmes enceintes et surtout pour les primipares
<p>Suivi des maladies, détection et lutte contre les épidémies</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Veillez de façon régulière et fiable à la déclaration des cas de paludisme et des décès. Fournir ce type de renseignements au personnel médical et aux décideurs en vue de prise de décisions appropriées - Etablir des capacités de réaction efficace aux épidémies pour maîtriser toute flambée aussi vite que possible - Etablir un système efficace permettant d'informer les organismes chargés de la lutte contre le paludisme et les décideurs d'autres secteurs concernés des nouveaux projets, des mouvements de main-d'œuvre et de populations, des changements dans l'environnement et de changements climatiques importants attendus susceptibles d'influer sur la situation du paludisme.

<p>Lutte à long terme</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Promouvoir l'action essentielle multisectorielle pour vérifier à ce que les projets et les activités ne créent pas des gîtes de ponté de vecteurs ou n'exposant pas le personnel, les familles et les communautés à des risques accrus de paludisme. - promulguer et faire respecter les lois et règlements appropriés pour soutenir les stratégies de lutte contre le paludisme. - Promouvoir la sensibilisation des milieux d'affaires aux conséquences néfastes de la continuité du problème du paludisme et les amener à fournir du soutien matériel et financer au programme de lutte contre le paludisme et à l'action communautaire. Faire bénéficier de la reconnaissance officielle ceux qui contribuent de façon soutenue et substantielle. - Fournir des mesures d'encouragement spéciales (telles que crédit à taux privilégiés, exonération de droits de régie, d'entrée et d'impôts sur le chiffre d'affaires) susceptibles de faire baisser les coûts des équipements et des fournitures de lutte contre le paludisme. - Promulguer et faire respecter les lois et règlements susceptibles de promouvoir la santé et de prévenir les maladies.
<p>Développement des ressources humaines</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Fournir les possibilités de formation continue au personnel médical pour lui permettre d'être informé de la politique nationale et des lignes directrices de la lutte contre le paludisme. - Etablir des programmes de formation à court, moyen et long terme conforme aux programmes de formation aux niveaux des débutants et recyclage. - Veiller à ce que les normes et lignes directrices relatives à la prise en charge des cas, à la prévention des maladies, au suivi et à la lutte contre les épidémies soient intégrées aux programmes de formation et à ce qu'elles constituent le fondement de l'évaluation des compétences acquises par les stagiaires au cours de la formation et de l'accomplissement de leurs tâches. - Réviser de façon régulière les programmes des écoles de médecine, d'infirmiers, de santé publique, des sciences connexes et d'autres établissements de formation pour veiller à ce qu'ils soient à jour par rapport aux politiques nationales et aux normes de prise en charge des maladies.

RESUME

Nom: BOCOUM épouse LANDOURE

Prénom : Mariam

Titre de la thèse : Contribution à l'étude phytochimique de
Spilanthès oleracea Jacq

Année : 1999-2000

Lieu de soutenance: Bamako

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la Faculté de Médecine de
Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie

Secteur d'intérêt: Médecine Traditionnelle

Résumé:

Après une recherche bibliographique qui nous a permis de répertorier les données agronomiques, botaniques, chimiques et pharmacologiques et les utilisations en médecine traditionnelle, nous avons effectué le contrôle de qualité de la matière première de la drogue de *Spilanthès oleracea* Jacq.

Nos travaux personnels, centrés sur les capitules du *Spilanthès oleracea* Jacq, nous ont permis de confirmer la présence de certains constituants chimiques de la plante, de connaître ses teneurs en eau, en cendres, en alcaloïdes, en flavonoïdes et tanins, et substances extractibles par éther riche en Spilanthol.

Nous avons effectué un contrôle de qualité des extraits riches en ce principe actif par chromatographie sur couche mince.

Mots clés: *Spilanthès oleracea* Jacq, Contrôle de qualité, Spilanthol, Médecine Traditionnelle.

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.

Je le jure.

4. LANÇONS UN APPEL:

A tous les Etats membres pour qu'ils entreprennent des réformes de systèmes de santé susceptibles de:

- i) permettre la participation des communautés à la copropriété et gestion des programmes de l'Initiative pour assurer leur durabilité.
- ii) faire en sorte que le diagnostic et le traitement du paludisme puissent s'effectuer de manière aussi périphérique que possible, y compris les traitements à domicile.
- iii) faire en sorte qu'un traitement adéquat soit accessible et disponible, même pour les groupes les plus démunis de la communauté.

5. PRENONS L'ENGAGEMENT DE:

- i) mettre en oeuvre, dans nos pays, le plan d'Action approuvé tel qu'annexé à la présente Déclaration.
- ii) développer des mécanismes destinés à faciliter la fourniture de renseignements fiables sur la situation du paludisme aux décideurs au niveau des foyers, des communautés, des quartiers et des pays, afin de leur permettre de prendre les mesures appropriées.
- iii) améliorer l'accès à la prévention du paludisme en réduisant ou en éliminant les droits et les tarifs sur les moustiquaires et les équipements, les insecticides, les antipaludiques et d'autres biens et services recommandés pour les stratégies de lutte contre le paludisme.
- iv) octroyer les ressources nécessaires pour une mise en oeuvre durable des mesures prévues dans le cadre de l'Initiative.
- v) accroître le soutien à la recherche (y compris la recherche opérationnelle) en vue de mettre au point de nouveaux outils et d'améliorer ceux qui existent déjà.
- vi) de commémorer le Sommet en déclarant le 25 avril de chaque année comme la Journée Africaine du Paludisme.