

**MINISTRE DE L'EDUCATION**

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DU MALI

\*\*\*\*\*

**REPUBLIQUE DU MALI**

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE  
BAMAKO**

ANNEE 2001

THESE N° 28.....

**SCREENING DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE  
DEUX ESPECES DE *TAPINANTHUS* POUSSANT  
SUR *BUTYROSPERMUM PARADOXUM*  
(GAERTN-F-) HEPPER (SAPOTACEAE)**

***THESE***

Présentée et soutenue publiquement le ..... Avril 2001  
devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

**par Monsieur Bakary TRAORE**

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie  
(Diplôme d'Etat)

**JURY**

**Président :** Professeur Amadou DIALLO

**Membres :** Docteur Elimane MARIKO  
Docteur Seydou DIARRA

**Directeur :** Docteur Drissa DIALLO

Ce travail exécuté au Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de  
Recherche en Santé Publique a bénéficié du soutien financier du Projet CNRST-NUFU  
Plantes médicinales (Mali-Gouvernement Novégien).

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE**  
**ANNEE UNIVERSITAIRE 2000 - 2001**

**ADMINISTRATION**

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR  
1<sup>ER</sup> ASSESSEUR : AROUNA KEITA - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE  
2<sup>EME</sup> ASSESSEUR : ALHOUSSEYNI AG MOHAMED - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE  
SECRETAIRE PRINCIPAL YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE  
AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

**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, <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

**2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

**3. MAITRES DE CONFERENCES**

Mme SY Aissata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

**4. MAITRES ASSISTANTS**

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale

## 5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophthalmologie
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	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie

## 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 <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie - Mycologie

### 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yéniomégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Flabou BOUGOUDOOGO	Bactériologie - Virologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie

### 3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

## 5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY  
Mr Mahamadou A. THERA

Hématologie  
Parasitologie

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

### 1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY  
Mr Mamadou K. TOURE  
Mr Mahamane MAIGA  
Mr Baba KOUMARE  
Mr Moussa TRAORE  
Mr Issa TRAORE  
Mr Mamadou M. KEITA  
Mr Hamar A. TRAORE

Médecine Interne  
Cardiologie  
Néphrologie  
Psychiatrie, **Chef de DER**  
Neurologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Médecine Interne

### 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE  
Mr Bah KEITA  
Mr Boubacar DIALLO  
Mr Dapa Aly DIALLO  
Mr Somita KEITA  
Mr Moussa Y. MAIGA  
Mr Abdel Kader TRAORE

Pédiatrie  
Pneumo-Phtisiologie  
Cardiologie  
Hématologie  
Dermato-Leprologie  
Gastro-entérologie  
Médecine Interne

### 3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE  
Mr Mamady KANE  
Mme Tatiana KEITA  
Mr Diankiné KAYENTAO  
Mme TRAORE Mariam SYLLA  
Mr Siaka SIDIBE  
Mr Adama D. KEITA

Médecine Interne  
Radiologie  
Pédiatrie  
Pneumo-Phtisiologie  
Pédiatrie  
Radiologie  
Radiologie

### 4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE  
Mr Bougouzié SANOGO  
Mr Saharé FONGORO  
Mr Bakoroba COULIBALY  
Mr Kassoum SANOGO  
Mr Seydou DIAKITE  
Mme Habibatou DIAWARA  
Mr Mamadou B. CISSE  
Mr Arouna TOGORA  
Mme SIDIBE Assa TRAORE

Psychiatrie  
Gastro-entérologie  
Néphrologie  
Psychiatrie  
Cardiologie  
Cardiologie  
Dermatologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Endocrinologie

### 5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

## D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

### 1. PROFESSEUR

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

### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matières Médicales  
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 Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Sidiki DIABATE	Bibliographie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souléymanne GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Arouna COULIBALY	Mathématiques
Mr Mamadou Bocary DIARRA	Cardiologie
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie Médicale

## ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. A.E. YAPO	BIOCHIMIE
Pr. M.L. SOW	MED. LEGALE
Pr. Doudou BA	BROMATOLOGIE
Pr. M. BADIANE	PHARMACIE CHIMIQUE
Pr. Babacar FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr. Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Pr. Mounirou CISSE	HYDROLOGIE
Dr. G. FARNARIER	PHYSIOLOGIE

# **DEDICACES**

## **Je dédie ce travail à :**

- Mon père, feu Yaya TRAORE. « **Homme de combat et de sagesse** », tu m'as donné de l'inspiration pour ce travail ; si tous nos vœux étaient exaucés dans la vie, tu aurais survécu jusqu'à la finition de ce travail.

Puisse ton âme reposer en paix éternelle et tes bénédictions illuminer les ténèbres qui jalonnent ma vie.

- A ma bien chère mère, Aminata NIARE. « **Femme de sagesse et de patience** », j'en conviens que : la nuit elle a beau être longue mais au bout du compte l'aurore apparaîtra. Les fruits ont mûri, souhaitons les cueillir avec la tendresse et la bienveillance du ciel.

- A mes frères et sœurs : Moussa, Ramata, Mamadou, Birama, Issa, Nouhoum et j'en oublie certainement. Que tous trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude. L'atmosphère familiale cordiale que nous entretenons m'a permis d'être ce que je suis au jour d'aujourd'hui.

Votre attitude de toujours satisfaire le désir des autres fait que vous êtes tous amis à moi. Cette attitude est une force de caractère qui fait votre grandeur et est un plus enviable.

Ce faisant rendons grâce à Dieu en souhaitant que perdure, entre nous la sincérité.

- A ma nièce et à mon neveu : Korotoumou BAMBA et Yaya TRAORE « Junior ». Que Dieu vous accorde la longévité pour lire votre oncle.

- A mon oncle, Soumana NIARE et à sa famille. Ne dit-on pas : qu'une vie sans espoir est difficilement vivable. Vous êtes un espoir pour moi. Votre présence à mes côtés à chaque fois que le besoin se fait sentir m'a donné l'espoir et la vigueur nécessaires à tout réussir. Encore une fois, que Dieu le Tout Puissant, le Miséricordieux soit loué. Puisse le ciel vous donner tout le mérite à la taille de votre bonté.

- A mes parents, amis et à tous ceux à qui je suis cher, je dis grand merci pour toute l'assistance et la sollicitude dont ils ont fait montre lors de la rédaction de ce travail qui n'est que le vôtre.

- A Habibata SOGOBA, cette leçon de morale à laquelle j'adhère s'adresse uniquement à toi : Ayons la patience et l'engouement nécessaires aussi coûteux soient-ils pour satisfaire nos désirs. Puisse Allah le Tout Puissant exaucer tous nos vœux.

- A tous mes maîtres ceux sans lesquels l'on ne saurait parler d'élèves, je vous remercie très chaleureusement. Retrouvez ici - à travers ma modeste personne - toute la satisfaction du service rendu.

# **REMERCIEMENTS**

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

- A tout le personnel du Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

Le cadre de travail que vous m'avez offert me restera graver à l'esprit. Je remercie vivement les Techniciens Famolo DIARRA, Fagnan SANOGO, Adama CAMARA et l'Assistant de Direction Monsieur Abdel Karim FOFANA pour la clarté dans tout ce que nous avons entrepris ensemble.

- Au personnel du Laboratoire de Bactériologie, de la Stérilisation et de la Section Schistosomiase de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

- Vifs remerciements à Madame Albertine NIASSE et à Monsieur Amadou YOSSI pour la gaîté de cœur avec laquelle ils m'ont accueilli et pour les sages conseils prodigués.

- A tous ceux qui furent mes compagnons sur cette tumultueuse piste qui me mène à mon parchemin, je leur exprime ici ma profonde gratitude.

- Remerciements particuliers à tous mes camarades de promotion. A mes camarades internes du Département Médecine Traditionnelle (DMT) : Assétou COULIBALY, Caroline IGNEGONGBA, Mama BAGAYOKO, Mama FOMBA, Mariam BOCOUM et Diabé BATHILY.

Je ne pouvais que m'estimer heureux en étant le seul Monsieur en votre compagnie. Du reste, votre sincère collaboration m'a été fructueuse à plus d'un titre, votre douceur ne pouvait que me galvaniser. Espérons que ceux qui réussissent ensemble demeurent des amis inséparables.

- Remerciements particuliers à mon grand ami de tous les jours Monsieur Sitapha TRAORE, Collaborateur extérieur du Département Médecine Traditionnelle (DMT).

- Enfin le plus grand des mercis va à mes parents qui m'ont encouragé tout au long de mes études et n'ont jamais douté de moi. Cette thèse, s'est un peu chacun d'entre vous qui l'avez écrite.

**REMERCIEMENTS AUX  
MEMBRES DU JURY**

# AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE *MAITRE ET PRESIDENT DU JURY*

**PROFESSEUR AMADOU DIALLO**

*Chef D.E.R Sciences Fondamentales à la FMPOS.*

Vous nous avez impressionné par votre enseignement, votre bonne humeur et vos plaisanteries aux bons moments s'accompagnent d'un dévouement pour la Biologie et pour le savoir d'une façon générale.

C'est un immense plaisir pour nous que vous ayez accepté d'être Président de ce Jury.

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

A NOTRE *MAITRE ET JUGE*

**DOCTEUR ELIMANE MARIKO**

*Chargé de cours, Chef de D.E.R à la FMPOS*

*Pharmacien Chef des Forces Armées et de la Sécurité.*

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger notre travail. L'occasion nous est donnée de vous exprimer notre gratitude pour la qualité de votre enseignement qui nous restera toujours profitable.

A NOTRE *JUGE*

**DOCTEUR SEYDOU DIARRA**

*Adjoint au Chef du service de Bactériologie-Sérologie à l'INRSP.*

Vous avez contribué de manière objective à l'élaboration de cet ouvrage en nous faisant bénéficier de vos conseils et de votre expérience.

Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude et mon profond respect.

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

**DOCTEUR DRISSA DIALLO**

***Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'I.N.R.S.P.***

Le cadre de travail que vous nous avez offert montre à suffisance que le travail de thèse est loin d'être une sinécure.

Tout au long de ce travail vous nous avez donné la confirmation de votre connaissance du domaine des plantes. Votre dévouement pour la recherche et votre rigueur scientifique s'expriment dans une simplicité enviable.

Veillez trouver dans cet ouvrage l'expression de mes remerciements les plus chaleureux et mes sentiments de profond respect.

## SOMMAIRE

<u>Chapitre I</u>	<u>Page</u>
<b>1) <u>Introduction</u></b>	<b>2</b>
<b>2) <u>Motivations</u></b>	<b>5</b>
<b>3) <u>Objectifs</u></b>	<b>6</b>
<b>3.1 <u>objectif général</u></b>	<b>6</b>
<b>3.2 <u>objectifs spécifiques</u></b>	<b>6</b>
<b><u>Chapitre II</u></b>	
<b>1) <u>Rappels</u></b>	<b>8</b>
1.1 <u>rappel sur les antioxydants</u>	<b>8</b>
1.1.1 <u>importance des espèces réactives de l'oxygène</u>	<b>8</b>
1.1.2 <u>anti oxydants d'origine naturelle</u>	<b>9</b>
1.1.3 <u>mécanismes d'action des anti oxydants</u>	<b>9</b>
1.1.4 <u>quelques composés à activité anti oxydante ou anti radicalaire isolés des végétaux</u>	<b>9</b>
1.2 <u>rappel sur les candidoses</u>	<b>11</b>
<b>1.2.1 <u>généralités sur les candidoses</u></b>	<b>11</b>
1.2.2 <u>autres méthodes pour les tests anti fongiques</u>	<b>12</b>
1.2.3 <u>composés utilisés dans le traitement des candidoses</u>	<b>13</b>
1.2.4 <u>quelques plantes fongicides et composés fongicides issus des végétaux</u>	<b>16</b>
1.3 <u>rappel sur la schistosomiase et sur les molluscicides</u>	<b>18</b>
1.3.1 <u>généralité sur les bilharzioses</u>	<b>18</b>
1.3.2 <u>molluscicides et anti bilharziens</u>	<b>18</b>
<b>2) <u>Travaux antérieurs :</u></b>	
2.1 <u>généralité sur la famille des <i>Loranthaceae</i></u>	<b>22</b>
2.2 <u>quelques plantes étudiées dans la famille des <i>Loranthaceae</i></u>	<b>22</b>
2.2.1 <u><i>Tapinanthus bangwensis</i></u>	<b>23</b>
2.2.2 <u><i>Tapinanthus dodoneifolius</i></u>	<b>24</b>
2.2.3 <u><i>Loranthus parasiticus</i></u>	<b>26</b>
2.2.4 <u><i>Fiscum album</i></u>	<b>28</b>
2.3 <u>utilisations traditionnelles des guis</u>	<b>29</b>
2.4 <u>répartition géographique du karité</u>	<b>30</b>
2.5 <u>description botanique des guis N°1 et N°2</u>	<b>31</b>
<b><u>Chapitre III : Méthodologie</u></b>	
1. <u>collecte des données</u>	<b>34</b>
2. <u>matériel végétal</u>	<b>34</b>
<b>3) <u>Extraction :</u></b>	<b>35</b>
3.1 <u>matériels</u>	<b>35</b>
3.2 <u>technique</u>	<b>35</b>
3.3 <u>schéma d'extraction</u>	<b>36</b>
3.4 <u>séparation des constituants</u>	<b>36</b>
<b>4) <u>Etudes phytochimiques :</u></b>	<b>37</b>
4.1 <u>alcaloïdes</u>	<b>37</b>
4.2 <u>substances polyphénoliques</u>	<b>38</b>
<b>4.3 <u>dérives anthracéniques</u></b>	<b>39</b>

4.4 stérols et triterpènes	41
4.5 hétérosides cardiotoniques	41
4.6 saponosides	42
4.7 autres caractérisations	42
4.8 dosage de l'eau	43
4.8.1 méthode pondérale	43
4.8.2 méthode azéotrope	44
4.9 dosage des cendres	44
4.9.1 dosage des cendres totales	44
4.9.2 dosage des cendres insolubles dans HCL à 10%	45
4.9.3 dosage des cendres sulfuriques (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 50%)	45
4.10 tétrahydrocannabinol (THC) : réaction de Beam	46
4.11 technique de la CCM	46
<b>5) Tests biologiques :</b>	<b>48</b>
5.1 détermination de l'activité anti fongique	48
5.1.1 principes de la méthode Bioautobiographique	48
5.1.2 méthode	48
5.1.3 milieux de culture	49
5.1.4 identification et conservation des souches de <i>Candida albicans</i>	50
5.1.5 solutions à tester et témoins	51
5.1.6 suspension et inoculum	53
5.1.7 préparation des plaques	53
5.2 test molluscicide	54
5.2.1 matériel de collecte	54
5.2.2 technique de la collecte	54
5.2.3 élevage au laboratoire	55
5.2.4 détermination de l'activité molluscicide	55
5.3 test antioxydant	58
<b>Chapitre IV : résultat</b>	
1. plantes utilisées dans le traitement des MST	60
2. études phytochimiques	63
2.1 dosage de l'eau	63
2.1.1 méthode gravimétrique	63
2.1.2 méthode azéotrope	63
2.2 substances extractibles par l'eau	64
2.3 dosage des cendres	64
2.3.1 dosage des cendres totales	64
2.3.2 dosage des cendres sulfuriques et chlorhydriques de la poudre des feuilles + rameaux de G <sub>1</sub> et de G <sub>2</sub>	65
2.4 réactions en tube	65
<b>3) Résultats des tests biologiques</b>	<b>68</b>
3.1 test molluscicide	68
3.2 tests anti oxydant et anti fongique	69
<b>COMMENTAIRES – DISCUSSIONS</b>	<b>73</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>76</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>78</b>
<b>ANNEXE</b>	<b>82</b>

**LISTE DES ABREVIATIONS  
ET SIGLES**

- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- AMV : Avion myeloblastosis virus
- A-549 : Lung carcinoma
- BHA : Butylhydroxyanisole
- CCM : Chromatographie sur couche mince
- CHL : Chlorophylle
- DPPH : Diphenyl picryl hydrazyle
- DGDG : Digalactosyldiacylglycerol
- EtOH : Ethanol
- G<sub>1</sub> : Gui n° 1
- G<sub>2</sub> : Gui n° 2
- G<sub>1</sub>EtOH : Extrait éthanolique du gui n° 1
- G<sub>2</sub>EtOH : Extrait éthanolique du gui n° 2
- K<sub>8</sub> : Squamous carcinoma
- LDL : Lipoprotéine à faible densité
- MDA-MB 231 : Mamma carcinoma
- MGDG : Monogalactosyldiacylglycérol
- MST : Maladies Sexuellement Transmissibles
- OMS : Organisation Mondiale de la santé
- pH : Potentiel en hydrogène
- ppm : Partie par millions
- RT : Reverse Transcriptase
- SIDA : Syndrome de l'immuno-déficience acquise
- S<sub>K</sub>-Mel 28 : Melanoma
- SQDG : Sulfoquinosyldiacylglycérol
- UV : Ultra-violet.
- G<sub>1</sub>d : Décocté du gui n° 1
- G<sub>2</sub>d : Décocté du gui n° 2
- DMT : Département Médecine Traditionnelle
- INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
- CMI : Concentration minimale inhibitrice
- BHT : Butylhydroxytoluène
- CLHP : Chromatographie liquide haute performance
- R<sub>f</sub> : Rapport frontal
- mg/ml : Milligramme par millilitre
- µg/ml : Microgramme par millilitre
- µl : Microlitre
- mm : Millimètre
- nm : Nanomètre

# **CHAPITRE I**

- 1) INTRODUCTION
- 2) MOTIVATIONS
- 3) OBJECTIFS

## **1. INTRODUCTION :**

Depuis la nuit des temps l'homme a loué les services de la nature pour soulager ses maux, celle-ci lui a bien rendu à travers la phytothérapie. Bien que cette relation ait existé depuis toujours, tous les mystères de la nature ne sont pas encore perçus par l'homme.

Le *Tapinanthus* est considéré comme une plante à mystère en ethnomédecine au Mali puis qu'il pousse en parasite sur une plante hôte.

Pour ce faire l'importance des *Tapinanthus* dans le traitement des maladies en ethnomédecine est particulièrement remarquable, notamment dans la région de Sikasso.

La valeur médico-magique accordée à chaque espèce tient compte de sa plante hôte. Ainsi cette valeur varierait d'une plante hôte à une autre.

Dans le domaine de l'agro-foresterie des stratégies s'élaborent pour lutter contre le parasitisme des *Tapinanthus* sur le karité. Les raisons sont liées d'une part à la fréquence des *Tapinanthus* sur les populations de karité sur toute la bande où on les rencontre et l'incidence directe est la diminution de la productivité fruitière (Sallé *et al.*, 1991).

Cette même source indique que l'espèce ubiquitaire au Mali et au Burkina Faso est *Tapinanthus dodoneifolius*.

D'autre part les *Tapinanthus* entraînent des nécroses au niveau de leur insertion sur l'hôte. Cette zone représente un site de surinfection potentielle.

Puisque ce sont des plantes il serait intéressant d'explorer leurs propriétés liées au parasitisme et d'autres propriétés non liées au parasitisme.

Le genre *Tapinanthus* a fait l'objet d'explorations.

Ainsi les feuilles de *Tapinanthus globiferus* ont un constituant antioxydant puissant d'après les résultats du Trolox-assay utilisé pour mesurer la capacité antioxydante totale des extraits aqueux de 17 plantes du Sahel occidental sur lesquelles l'étude a concerné.

Le Trolox-assay indique par ailleurs que les plantes de l'étude du Sahel occidental pourraient contenir d'autres particules hydrosolubles antioxydantes et se sont révélées comme pouvant avoir les propriétés anti-cancérigènes (Cook *et al.* 1998).

. Les caractéristiques des chloroplastes isolés à partir de deux espèces de gui originaires de la zone tempérée (*Viscum album*) et de la zone tropicale (*Tapinanthus dodoneifolius*) ont fait l'objet d'études appropriées (Tuquet et Sallé, 1996).

. L'extrait éthanolique des écorces du tronc d'une espèce de gui (*Tapinanthus bangwensis*) (Engl. SK Krauser Danser) a été testé par rapport à l'activité antibactérienne, antifongique et antitumorale. Les fractions HPLC avaient une activité antitumorale eu égard au pourcentage d'évolution des cellules tumorales (Abreu *et al.*, 1999).

. L'extrait éthanolique des écorces du tronc de *Tapinanthus bangwensis* a montré une activité antibactérienne et antifongique avec une CMI aux valeurs comprises entre 0,25 et 1,0 mg/ml (Abreu *et al.*, 1999).

Les investigations dans le genre *Tapinanthus* ont besoin d'être poussées à cause des résultats significatifs obtenus qu'il s'agisse de l'activité antioxydante, molluscicide ou antifongique.

Il est important de noter que les séquelles liées aux formes réactives de l'oxygène sont nombreuses. Il semblerait que les formes réactives de l'oxygène soient, en partie ou du moins à l'origine de nombreuses maladies comme par exemple la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, le mongolisme ou encore le cancer (Müller, 1992 ; Harman, 1992).

Compte tenu du fait qu'il existe une corrélation positive entre le nombre de cas de cancer vésical et le taux d'infestation par *Schistosoma hæmatobium* en Afrique (Sangaré, 2000), l'élucidation des propriétés molluscicides des plantes locales doit être à l'ordre du jour.

Au Mali si la prévalence des MST/SIDA a été en 1987 de 1,53% pour les femmes enceintes, 0,72% pour les donneurs de sang et 25,26% pour les prostituées, il faut noter une progression de ces taux en 1999.

En 1999 la prévalence a été de 2,57% pour les femmes enceintes et 29% pour les prostituées (DIARRA. *et al.*, 1999).

Depuis l'apparition du syndrome de l'immuno-déficience acquise (SIDA) dans la pathologie virale humaine il est nécessaire d'avoir une politique nationale permettant de circonscrire tous les facteurs favorisant dont les maladies sexuellement transmissibles (MST) et *Candida albicans*.

Déjà un produit issu de la fermentation bactérienne du gui est commercialisé dans les pays comme l'Allemagne, la Confédération Helvétique. Ce produit dont la composition n'est pas complètement connue est présenté comme antitumoral et est utilisé dans ce but par certains praticiens en l'absence d'études approfondies démontrant clairement son intérêt (Bruneton, 1993).

Entre les courants de Chercheurs (Agroforestiers, Phytochimistes et Pharmacologues) ce qui doit prévaloir c'est le rapport bénéfice/risque.

Notre travail est une contribution à l'étude de l'activité biologique des *Tapinanthus* et de leur composition chimique.

Il a comporté une introduction après laquelle nous avons présenté les travaux antérieurs suivis des méthodologies de nos travaux personnels et nos résultats.

## **2. MOTIVATIONS :**

Ce travail a été motivé par :

- une contribution à la connaissance de la famille des *Loranthaceae* à travers le genre *Tapinanthus*.
- Une valorisation des *Tapinanthus* poussant sur *Butyrospermum paradoxum* reconnus toxiques pour leur hôte.
- L'existence sur le plan national de peu de travaux phytochimiques et pharmacologiques sur les *Tapinanthus* et plus précisément sur ceux de *Butyrospermum paradoxum*.
- L'élaboration des éléments de base d'un phytomédicament.
- L'utilisation locale des guis de karité dans le traitement des maladies sexuellement transmissibles (MST).

### **3. OBJECTIFS :**

#### **3.1. Objectif général :**

Evaluer les activités biologiques et la composition chimique des *Tapinanthus* poussant sur *Butyrospermum paradoxum*.

#### **3.2. Objectifs spécifiques :**

- Déterminer l'activité molluscicide de deux espèces de *Tapinanthus* (*T. dodoneifolius* et *T. pentagonia*) poussant sur *Butyrospermum paradoxum*.
- Déterminer l'activité anticandidosique des extraits de *Tapinanthus* sur *Candida albicans*.
- Déterminer l'activité antibactérienne des extraits de *Tapinanthus* sur *Escherichia coli*.
- Déterminer l'activité antioxydante des différents extraits de *Tapinanthus*.
- Identifier les groupes chimiques présents dans les deux espèces de *Tapinanthus*.
- Déterminer la teneur des substances extractibles par l'eau
- Déterminer les cendres totales dans la poudre des rameaux feuillés.
- Déterminer les teneurs en eau des poudres des rameaux feuillés.

# **CHAPITRE II**

- 1) RAPPELS
- 2) TRAVAUX ANTERIEURS

## **I. RAPPELS**

### **1.1. RAPPELS SUR LES ANTIOXYDANTS :**

**1.1.1. Importance des espèces réactives de l'oxygène** : Un intérêt croissant existe pour les antioxydants car il semblerait que les formes réactives de l'oxygène soient, en partie ou du moins, à l'origine de nombreuses maladies comme par exemple la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, le mongolisme ou encore le cancer (Müller, 1992 ; Harman, 1992). Il existe différentes espèces réactives de l'oxygène telles le radical superoxyde, le radical hydroxyle, divers radicaux alkoxyles et peroxydes, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet.

Ces espèces sont utiles pour l'organisme afin de combattre les agents infectieux.. La production, par le corps humain, de certains composés comme les prostaglandines, passe aussi par des intermédiaires radicalaires. Cependant, si leur production n'est pas strictement contrôlée, ces espèces instables peuvent engendrer des dégâts dans l'organisme en provoquant des dommages à l'ADN, peroxydant les lipides ou encore fragmentant les protéines. Dans la plupart des cas, les oxydants ne sont pas la cause, mais jouent un rôle secondaire au processus primaire de la maladie. Ceci ne signifie en aucun cas qu'il faut négliger cet aspect car dans le cas par exemple de l'athérosclérose, les dommages oxydatifs secondaires causés aux lipides au niveau des parois des vaisseaux sanguins sont une contribution significative au développement de cette maladie (Halliwell, 1996).

Il faut toutefois être conscient que tous les radicaux ne sont pas de forts oxydants et que tous les oxydants ne sont pas des radicaux.

L'origine des radicaux est diverse. Tout d'abord, la pollution de notre environnement peut générer la formation d'espèces réactives de l'oxygène, mais aussi la fumée.

Rappelons qu'une bouffée de cigarettes contient environ  $10^{14}$  radicaux. Ces mêmes cigarettes contiennent également des traces d'ions métalliques qui peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour former des radicaux hydroxyles. La vitamine C, par exemple, considérée comme un antioxydant, peut aussi être à l'origine de la formation de radicaux hydroxyles en présence de peroxyde d'hydrogène (Chevalley, 2000).

### 1.1.2. Les antioxydants d'origine naturelle :

On trouve beaucoup d'antioxydants dans notre nourriture, tels que la vitamine E, les caroténoïdes ou encore les flavonoïdes.

Il semblerait que ces derniers contribuent de manière significative à la prévention de maladies telles que le cancer ou encore les maladies cardiaques. On peut citer tout particulièrement les procyanidines du thé vert qui ont, actuellement, un très grand succès (Weisburger, 1997) et le resvératrol 80 contenu dans les vins rouges (Jang et Pezzuto, 1997).

L'industrie alimentaire est toujours à la recherche d'antioxydants d'origine naturelle pour fournir une alternative à l'utilisation des composés synthétiques tels que le butyl hydroxytoluène (BHT) ou le butylhydroxyanisole (BHA).

Ils utilisent actuellement des diterpènes du romarain (*Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae) disponibles commercialement comme additifs alimentaires (Schwarz et Ternes, 1992).

La Chimie recherche également les antioxydants d'origine naturelle pour trouver de nouvelles structures modèles pour le développement de nouveaux médicaments.

### 1.1.3. Mécanismes d'action des antioxydants :

Ces mécanismes sont divers incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes ; la complexation d'ions et de métaux de transition (Larson, 1995).

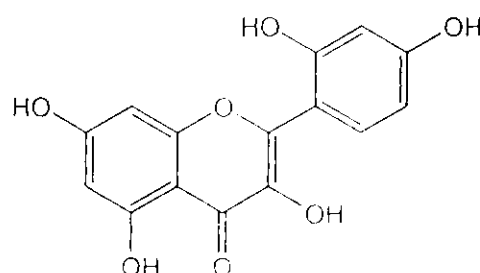
Les antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention de certaines maladies (Cancer, maladies cardiovasculaires...).

### 1.1.4. Quelques composés à activité oxydante ou antiradicalaire isolés des végétaux :

#### 1.1.4.1. La Morine :

C'est un flavonoïde à activité antioxydante.

Morine

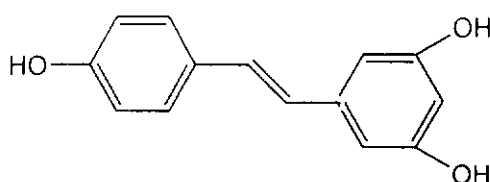


La Morine, qui présente non seulement une activité antioxydante envers les radicaux peroxydes, mais également une activité hépatoprotectrice. Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines à faible densité (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogenèse (Potterat, 1997).

#### 1.1.4.2. Le Resveratrol :

C'est un dérivé phénolique isolé du raisin. Il possède de fortes propriétés antioxydantes. Il inhibe également le développement des lésions préneoplastiques de la souris et rencontre un certain intérêt en tant qu'agent chimiopréventif chez l'être humain (Jang *et al*, 1997).

Resveratrol



Il existe pour autant d'autres classes de substances telles que les xanthones, les coumarines, les caroténoïdes, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique, les tanins et les lignanes pour lesquelles on a pu établir des activités antioxydantes.

De nos jours l'étude de l'activité antioxydante de nouveaux composés intéresse aussi bien l'industrie alimentaire que l'industrie du médicament.

En ce qui concerne les médicaments, de nouveaux composés aux propriétés antioxydantes sont en cours de développement. Rappelons que pour trouver une application en tant que médicament, un composé doit posséder non seulement une activité antioxydante, mais aussi être doté de propriétés physico-chimiques lui permettant une distribution correcte dans les cellules et dans les tissus, ce qui n'est pas toujours évident.

Actuellement plusieurs agents thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les anti-hyperlipoprotéïnémiques, les  $\beta$ -bloquants et antihypertensifs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes. Citons deux exemples :

- Le Probuco<sup>R</sup> est un médicament qui, en plus de ses effets reconnus dans la baisse du taux sanguin de cholestérol, prévient l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL).

- En ce qui concerne la N-Acetylcystéine, de nombreuses études s'y sont intéressées.

Cette molécule pénètre les cellules, et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion.

Des recherches ont également démontré que la N-Acetylcystéine peut être utile dans le traitement des blessures du poumon dues à des espèces réactives de l'oxygène (Cavin, 1999).

## 1.2. RAPPELS SUR LES CANDIDOSES :

### 1.2.1. Généralités sur les Candidoses :

Sous le terme de Candidoses, on décrit les affections diverses : cutanées, muqueuses, phanères, viscères dues à des champignons levuriformes du genre *Candida* (Diarra, 1989).

Ce sont des microorganismes vivants encore appelés micromycètes appartenant au règne végétal, et différents des bactéries par leurs plus grandes tailles et leurs structures complexes. Ce sont des Eucaryotes pourvus de noyau et ils sont hétérotrophes (Ó Fel, 1982).

*Candida albicans* appartient au genre *Candida* et à l'espèce *albicans*. Il appartient à la classe des Ascomycètes, à la sous-classe des Hemi Ascomycètes, à la famille des *Cryptococcaceae*, au règne des végétaux (Kanta, 2000)

Selon la classification de Kreger Van Ru, il existe plusieurs espèces du genre *Candida*, environ 196 espèces, mais cette classification diffère selon les auteurs. Parmi ces espèces sept (7) peuvent être pathogènes pour l'homme. Ce sont :

*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudo-tropicalis*, *Candida guilliermondi*, *Candida brumpti*, *Candida parapsilosis* et *Candida krusei*.

Les plus fréquemment isolés sont dans l'ordre : *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, et *Candida krusei* (Bouchet, 1989).

D'autres espèces ont été isolées d'affection humaines et rencontrées dans la nature. Ce sont :

*Candida stellatoïdes*, *Candida parakrusei*, *Candida utilis*, *Candida intermedia*, *Candida glabrata* et *Candida zeynaloïdes* (Jacquemin, 1974)

Il existe différentes sortes de candidoses. En grande ligne ce sont :

- les candidoses digestives.

- les candidoses cutanées et unguéales
- les candidoses viscérales
- la septicémie à candida
- les candidoses uro-génitales

Les candidoses uro-génitales qui constituent un centre d'intérêt pour nous se divisent en : Vulvo-vaginites et en candidoses urinaires. Les vulvo-vaginites se caractérisent par une leucorrhée abondante, grumuleuse blanchâtre, un prurit intense enfin une dyspareunie. La conséquence peut être des naissances prématurées.

Chez l'homme, on constate une dépigmentation du gland. Quant aux candidoses urinaires leurs caractéristiques sont les urétrites à la phase aiguë et des écoulements purulents. Mal traitées, elles évoluent vers une balanite prostatite.

### **1.2.2. Autres méthodes pour les tests antifongiques :**

Pour notre part, nous avons utilisé la méthode Bioautographique d'agar recouvrant les plaques. Cependant il existe d'autres méthodes dont quelques unes sont :

#### - Technique de dilution en milieu liquide (Sanou, 1997)

Dans une série de tubes à essai stériles, introduire des doses croissantes d'une part d'une solution étalon d'activité connue et d'autre part, de la solution à titrer.

Ajouter dans chaque tube un volume constant d'un milieu nutritif ensemencé avec un germe déterminé.

Porter 3 à 4 heures au bain-marie à 37° C.

L'inhibition se traduit par l'absence de cultures visibles dans le tube.

#### - Technique de diffusion en milieu gélifié ou dilution agar :

$10^3$  cellules équivalent à 10  $\mu$ l de culture de 18 heures de chaque germe réalisé dans un bouillon Eugon sont incubées dans 14 tubes contenant l'extrait végétal incorporé par double dilution au Sabouraud/Chloramphenicol pour les germes fongiques ou à l'agar Hinton pour les bactéries. Avant d'ensemencer les germes, les 14 tubes expérimentaux et deux tubes témoins sont autoclavés 15 minutes à 121° C inclinés à la température de la salle pour permettre leur refroidissement et la solidification de l'agar.

Les 16 tubes dont 15 ensemencés ainsi préparés sont incubés pendant 72 heures à 30° C pour les germes fongiques et 37° C pour les bactéries. Après 72 heures, les colonies dans les 14 tubes sont dénombrées, et la croissance dans les 14 tubes est évaluée en % de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans les tubes témoins (Kanta, 2000).

### **1.2.3. Composés utilisés dans le traitement des candidoses :**

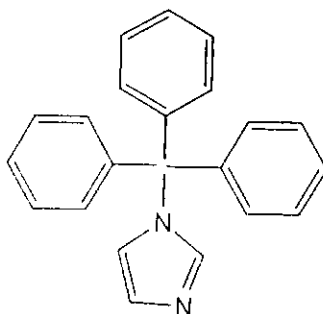
Les médicaments utilisés dans le traitement des candidoses se retrouvent à travers diverses classes de composés utilisés dans le traitement des affections fongiques de façon générale.

Actuellement les antifongiques utilisés en clinique dans le traitement des candidoses sont les polyènes, les imidazolés, la flucytosine, la griséofulvine. Les médicaments sont soit des antifongiques à action systémique soit des antifongiques à action locale et topique.

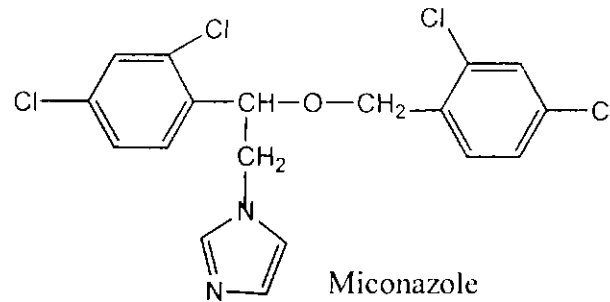
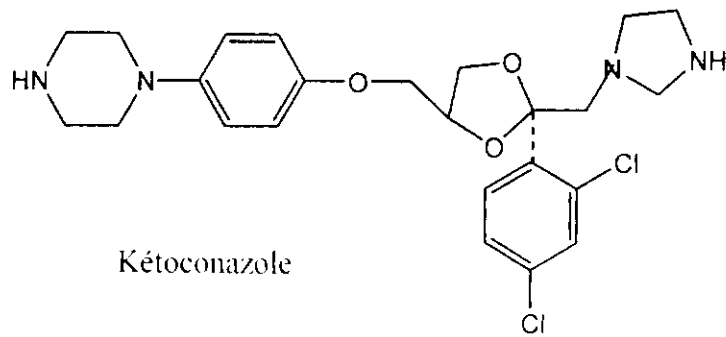
#### **1.2.3.1. Imidazolés :**

Le prototype de cette classe de composé est le clotrimazole. Son emploi est limité aux applications topiques à cause de ses effets secondaires. Aujourd'hui il existe de nouveaux dérivés imidazolés ayant moins d'effets secondaires, utilisés contre les infections systémiques. (Ketoconazole, Miconazole).

L'effet fongistatique est dû de l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol. Ils se lient également aux Phospholipides et aux acides gras qui composent la paroi de la levure (Stéfan, 1996).



Clotrimozole

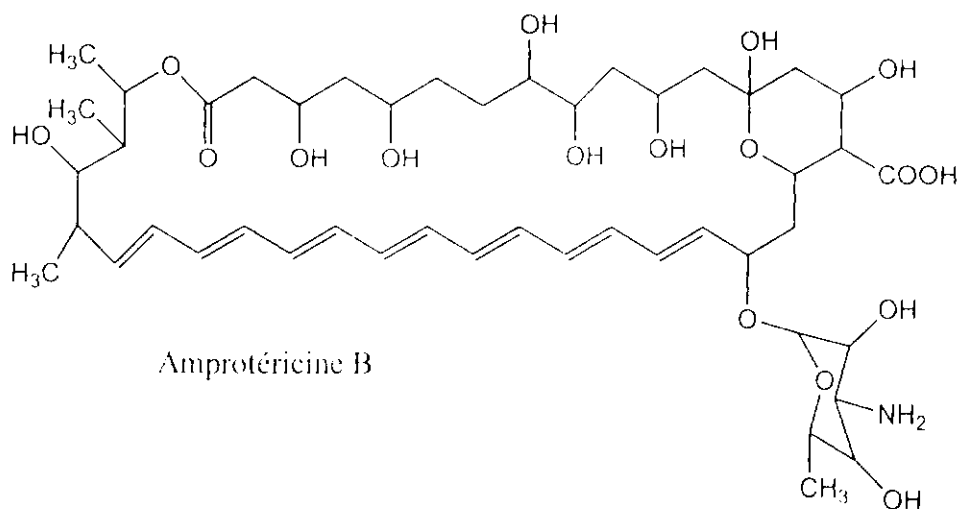


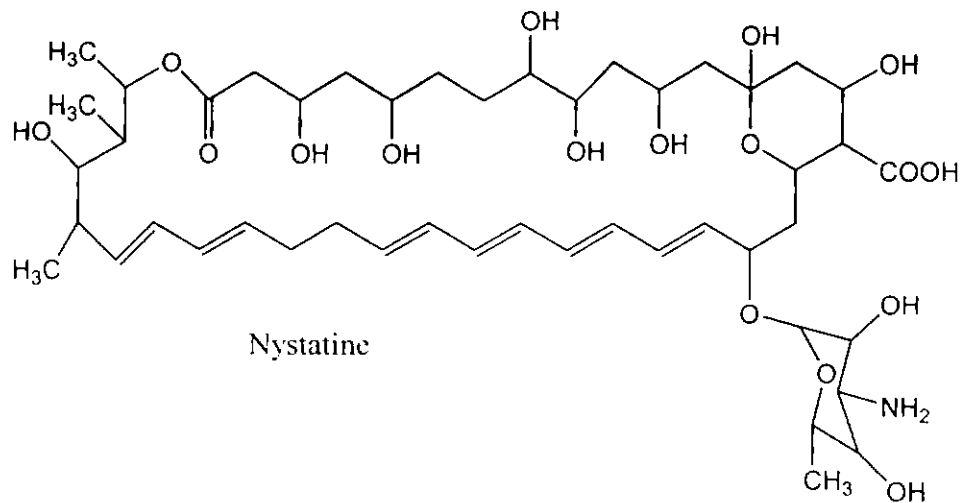
### 1.2.3.2. Polyènes :

Les substances les plus couramment utilisées dans cette classe sont la nystatine et l'amphotéricine B.

Ils sont utilisés pour le traitement des infections topiques et systémiques de *Candida albicans* ou d'*Aspergillus* spp.

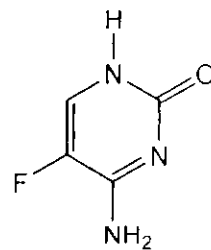
Les polyènes inter-actionnent avec les stérols sur la membrane cellulaire des fungi. Cette conduite interfère par exemple sur les systèmes de transport notamment celui du potassium se trouve bloquer (Mutschler, 1996).





### 1.2.3.3. Flucytosine :

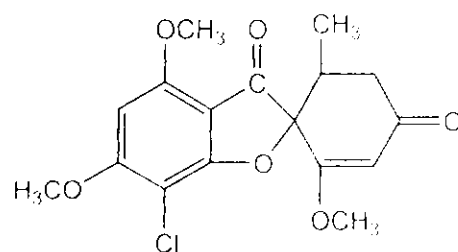
Analogue de la cytosine, c'est un dérivé fluoré de la pyrimidine. Elle interfère avec la synthèse des acides, perturbe celle des protéines et provoque la mort de la levure. Elle est efficace dans le traitement des infections dues à *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et les *Aspergillus* spp (Kanta, 2000).



Flucytosine

### 1.2.3.4. Griséofulvine :

Son action est une inhibition de la mitose fongique. Son utilisation courante intéresse les dermatophytes (Kanta, 2000).



Griséofulvine

#### 1.2.4. Quelques plantes fongicides et composés fongicides issus des végétaux

##### ***Swartzia madagascariensis* :**

Les études effectuées sur la plante ont révélé que les extraits chloroformiques, pétroliques et méthanoliques des racines de la plante ont été actifs sur *Candida albicans* et *Bacillus subtilis*.

L'extrait chloroformique a possédé la plus grande activité à la concentration de 50 Ug/ml sur *Candida albicans*. La méthode utilisée a été la méthode Bioautographique sur gélose Sabouraud (Rahalison *et al*, 1991).

##### ***Entada abyssinica* :**

Divers extraits des écorces de racines et de tiges d'*Entada abyssinica* inhibent la croissance de *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes* sur milieu solide. Deux composés intéressants responsables de l'activité ont été identifiés : ce sont C1 et C2 ont présenté une très bonne activité antifongique et antibactérienne.

B3 et B4 ont présenté à la fois une activité antifongique et antibactérienne. Les études spectroscopiques par UV, IR, RMN ont indiqué que C2 contient des cardénolides. Par comparaison avec l'Ouabaine (G. strophantin) utilisé comme cardénolide de référence, B3 est caractérisé par l'acide oxalique (Nambatya *et al*, 1995).

Les études menées à l'Université de Dakar sur l'activité antifongique de trois plantes : *Terminalia avicenoïdes*, *Combretum micranthum*, *Guiera senegalensis* ont montré une activité inhibitrice sur *Candida albicans* à partir des décoctés et macérés des racines desdites plantes. Ces résultats ont été comparés à ceux d'un antifongique de référence : le miconazole. Les concentrations ont varié de 2 Ug/ml jusqu'à 10 Ug/ml (Sanou, 1997).

Une étude menée au Mali sur les plantes à action fongicide a montré que les extraits éthanoliques et méthanoliques des écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* ont été actifs sur *Candida albicans* avec les CMI respectives de 0,046 mg/ml et 0,15 mg/ml. Les extraits aqueux, chloroformiques et éthéro-pétroliques étaient actifs sur *Candida albicans*. Une étude de l'activité anticandidosique des extraits éthanoliques et méthanoliques des écorces de tronc de *Parkia biglobosa* a donné des CMI respectives de 0,54 mg/ml et 1.54mg/ml alors que l'extrait méthanolique de la plante

entière de *Stylosanthes mucronata* a inhibé la croissance de *Candida albicans* à la CMI de 13,75 mg/ml (Sanou, 1997).

***Stevia triflora*** : Le O-glycosyl flavonol ombuoside a été isolé des parties aériennes de la plante et testé sur *Candida albicans* par la méthode de diffusion sur Agar. Il possède une activité modérée contre *Candida albicans* avec ses dérivés synthétiques (Kanta, 2000).

### **1.3. Rappels sur la Schistosomiase et sur les molluscicides :**

#### **1.3.1. Généralités sur les bilharzioses :**

**1.3.1.1. Définition** : Les bilharzioses sont des affections parasitaires dues à des vers plats, les bilharzies ou schistosomes, trématodes à sexes séparés hématophages vivant dans le système circulaire (Sangaré, 2000).

#### **1.3.1.2. Différentes espèces de schistosomes :**

Il existe cinq espèces pathogènes pour l'homme. Ce sont :

- *Schistosoma hæmatobium*
- *Schistosoma intercalatum*
- *Schistosoma mansoni*
- *Schistosoma japonicum*
- *Schistosoma mekongi*

#### **1.3.1.3. Différentes formes cliniques :**

Sur le plan clinique il existe les formes suivantes :

- Bilharziose vésicale ou urogénitale : elle est due à *S. hæmatobium* et *S. mansoni*.
- Bilharziose rectale : causée par *S. intercalatum*
- Bilharziose artérioveineuse : causée par *S. japonicum* et *S. mekongi*.

Parmi ces différentes formes cliniques, deux existent au Mali, il s'agit des formes urogénitale et intestinale.

#### **1.3.2. Les molluscicides et antibilharziens :**

Compte tenu du fait que les molluscicides constituent les hôtes intermédiaires des bilharzies, une façon de lutter contre la schistosomiase est l'emploi des molluscicides.

L'emploi des molluscicides entre dans le cadre de la lutte chimique. Cependant il existe des médicaments synthétiques agissant à certains stades de vie des futures mollusques (stade cercaires) c'est la chimiothérapie. Une dernière alternative dans le traitement curatif demeure la chirurgie, elle s'intéresse aux complications.

### **1.3.2.1. Quelques molluscicides chimiques utilisés :**

- **Sulfate de cuivre** : Ce produit est actif à la concentration de 50 mg/l d'eau contre les mollusques et cercaires. L'activité est influencée par les conditions physico-chimiques du milieu (pH de l'eau, turbidité, végétation).

- **Pentachlorophénate de sodium** :

Il est employé à raison de 10 mg/ litre d'eau pendant 8 heures dans l'eau courante et 5 mg/l dans l'eau stagnante, il est actif contre les mollusques cercaires. Son inconvénient est qu'il est photolabile c'est pourquoi il doit être protégé pendant le stockage contre le soleil.

- **Niclosamide** : Bayluscide<sup>R</sup>

Sel d'éthanolamide du dichloro-2,5 nitro-4 Salicyl anilide.

Le Bayluscide est actuellement le molluscicide de choix, c'est le seul qui est massivement utilisé dans les programmes de lutte.

Il est très efficace aux concentrations de 4 à 8 mg/l d'eau pendant 1 heure.

Il agit efficacement contre les mollusques et cercaires. C'est un produit stable et peu sensible aux variations physico-chimiques du milieu.

### **1.3.2.2. Quelques plantes molluscicides :**

A travers le monde plus de mille espèces de plantes ont été identifiées pour leur activité molluscicide. Nous pouvons citer :

Ayoub et Yankov ont effectué des travaux sur l'activité molluscicide de 17 espèces d'Accacia du Soudan (Sangaré, 2000). Ils ont montré que les extraits d'acétate d'éthyl des fruits des espèces d'Accacia à savoir : *Accacia albida*, *Accacia nubica*, *Accacia seyal* et *Accacia saligna* étaient actifs sur *Bulinus truncatus* et *Biomphalaria pfeifferi*. La létalité est de 100% à la dose de 100 ppm. En Afrique du Sud a été constaté l'effet toxique des fruits de *Balanites aegyptiaca* sur les mollusques d'eau douce. Au Mali, BA en 1998 a montré l'activité molluscicide de *Vernonia kotschyana*, *Entada africana*, *Zizyphus mucronata*, *lawsonia inermis* et *Cissus quadragularis*.

Doumbia et Fofana ont effectué des études sur le pouvoir molluscicide de *Ambrosia maritima linn*. Ces travaux très encourageants ont permis de montrer que la souche locale d'*Ambrosia maritima linn* a été active sur les mollusques (Sangaré, 2000).

Malgré le grand nombre de plantes molluscicides identifiées très peu remplissent réellement le critère pour une application efficace. Parmi les différents molluscicides prometteurs figurent (Sangaré, 2000) :

Endod (*Phytolacca dodecandra*) : Les fruits de cette plante contiennent des saponines triterpénoïdes de grande activité molluscicide. Des terrains d'essai prometteurs ont été entrepris avec Endod en Ethiopie.

Des champs d'essai ont été pratiqués avec *Ambrosia maritima* (Asteraceae) en Egypte, *Accacia nilotica* (leguminosaceae) au Soudan et avec *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) au Mozambique.

*Tetrapleura tetraptera* : A cause des fortes propriétés molluscicides de ces fruits aux expérimentations dans les laboratoires ces champs d'essai ont été réalisés et cet arbre est maintenant considéré comme une plante prometteuse pour le contrôle local des Schistosomias.

*Swartzia madagascariensis* (legumosaceae) : plusieurs rapports ont montré que les fruits de cet arbre ont été utilisé effectivement dans le contrôle des populations de mollusques transmettant les Schistosomias dans les marres naturelles (Sangaré, 2000).

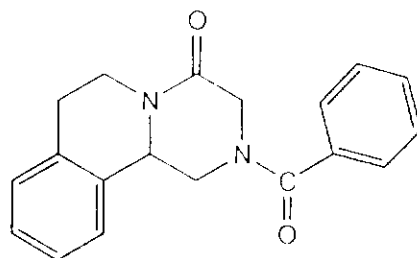
### 1.3.2.3. Antibilharziens :

Plusieurs produits ont été proposés comme antibilharziens mais beaucoup se sont révélés inutilisables dans le traitement de masse en raison de leur mode d'administration, de leur mauvaise tolérance et surtout de leur toxicité aux doses réellement efficaces.

A l'heure actuelle les molécules utilisées sont très peu toxiques, efficaces et bien tolérées (Sangaré, 2000). Ce sont :

- Praziquantel : Biltricide<sup>R</sup>

Praziquantel -Biltricide



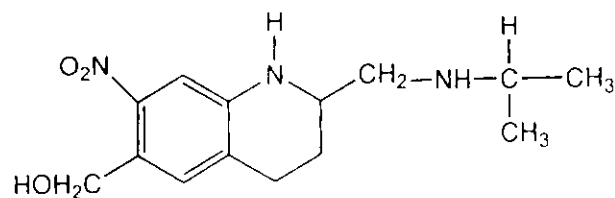
Présenté sous forme de comprimés sécables dosés à 600 mg, il est administré à la dose de 40 mg/kg de poids corporel en dose unique.

C'est un médicament bien toléré, actif contre toutes les formes de schistosomes.

Actuellement c'est le médicament de choix pour la Chimiothérapie de masse.

- **Oxamniquine** : Vansil<sup>R</sup>

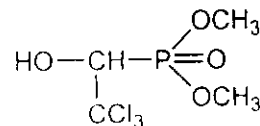
Oxamniquine= Vansil



Présenté sous forme de gélule à 250 mg, boîte de 4 gélules ou de suspension orale (50 mg/ml) ou de flacon de 10 ml. La posologie recommandée est de 15 mg/kg en une seule prise. C'est un antibilharzien monospécifique actif sur *S. mansoni*.

- **Métrifonante** : Bilarcil<sup>R</sup>

Métrifonante= Bilarcil



Présenté sous forme de comprimés dosés à 100 mg. La posologie recommandée est de 7,5 à 10 mg/kg de poids corporel administré en trois doses à des intervalles de 2 à 4 semaines. Son spectre est limité uniquement à *S. hæmatobium*.

## 2. TRAVAUX ANTERIEURS :

### 2.1. Généralités sur la famille des *Loranthaceae* :

C'est une famille surtout tropicale dans les deux hémisphères et comprenant une cinquantaine de genres ; elle n'est constituée que par des plantes parasites dont le gui (*Viscum album*) bien connu en Europe.

Au Sénégal elle est représentée par cinq genres : *Beranthia*, *Englerina*, *Globimetula*, *Agelanthus* et *Tapinanthus*. Il se rencontrent sur les branches des arbres, depuis le Sahel jusqu'à la région guinéenne incluse.

Les feuilles sont opposées, rarement alternes, simples, entières, sans stipules. Les fleurs ont des couleurs brillantes, jaune, rouge, orangé. Les lobes du périanthe sont valvaires, libres ou unis en un tube.

Les étamines sont insérées sur le périanthe où a sa base aussi nombreuses que les lobes.

L'ovaire est infère. Le fruit est une baie ou une drupe. Certaines *loranthaceae* semblent ne parasiter qu'un nombre restreint d'espèces.

Ainsi *Beranthia* n'a été observé à ce jour que sur *Combretum glutinosum* ; à l'opposé *Tapinanthus bangwensis* est retrouvé sur d'autres espèces. Il parasite aussi bien les espèces spontanées ou subspontanées qu'exotiques dans les familles les plus diverses : Cusuarinaceae, Mimosaceae, Moraceae, Rutaceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Bombacaceae Combretaceae, etc.

Pour le cas de *Butyrospermum paradoxum* (Gaertn. F) Hepper élément de la famille des *Sapotaceae* pour lequel notre étude concerne quatre espèces de Phanérogames parasites, du genre *Tapinanthus* ont été observées et identifiées au Mali et au Burkina Faso :

- *Tapinanthus dodoneifolius* (DC) Danser
- *Tapinanthus globiferus* (A. Rich) Danser
- *Tapinanthus pentagonia* (DC) Van Tieghem
- *Tapinanthus ophioïdes* (Sprague) Danser

Dans ces deux pays *Tapinanthus dodoneifolius* est l'espèce ubiquiste. (Kerharo. et Adam 1974 ; Sallé *et al*, 1987, Boussim, 1988, 1991 ; Maïga, 1989).

Ces plantes hémiparasites, épiphytes, se fixent sur les branches de leur hôte dans lesquelles elles puisent l'eau et les sels minéraux par l'intermédiaire d'un organe d'absorption ou suçoir.

La famille des Loranthaceae n'a fait l'objet que de peu d'études phytochimiques surtout dans le genre *Tapinanthus*.

Nous allons donner un aperçu des investigations phytochimiques et de l'activité biologique effectuées sur certaines espèces.

## **2.2. Quelques plantes étudiées dans la famille des Loranthaceae :**

### **2.2.1. *Tapinanthus bangwensis* (Engl. SK. Krause)**

*T. bangwensis* se retrouve à travers une recherche ethnobotanique effectuée en Guinée-Bissau (Abreu *et al*, 1999).

Dans cette étude 18 extraits obtenus à partir de 60 espèces médicinales ont été dépistées pour les activités anti-microbiennes, antitumorale et antileishmaniose.

La plante est utilisée localement pour le traitement de l'incontinence urinaire. Pour cette étude l'extrait EtOH du tronc a été utilisé pour les différentes investigations de l'activité biologique. Les germes tests utilisés sont *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *C. albicans* et *P. aeruginosa* pour les tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice et pour la mesure du diamètre de la zone d'inhibition. Pour la détermination de l'activité antitumorale les microorganismes suivants ont été testés. Ce sont : KB = *Squamous carcinoma*, SK-Mel 28 = *Melanoma*, A-549 = *Lung carcinoma*, MDA-MB 231 = *Mamma carcinoma*.

Cette étude a permis d'avoir des informations sur l'utilisation traditionnelle de la plante mais aussi certaines de ses activités biologiques notamment antibactérienne, antifongique et antitumorale.

Le diamètre de la zone d'inhibition ( $\Phi$ ) à la concentration de 1 mg/ml s'est présenté comme suit :

- |   |                            |
|---|----------------------------|
| - Fraction ( $F_4$ ) = 12 < ( $\Phi$ ) < 20 | } $\Phi$ est mesuré en mm. |
| - Fraction ( $F_5$ ) = 8 < ( $\Phi$ ) < 12  |                            |

La concentration minimale inhibitrice a varié entre 0,25 et 1,0 mg/ml. Concernant l'activité antitumorale de *T. bangwensis* à  $IC_{50}$  ( $\mu$ g/ml) elle était nulle. Cependant les fractions HPLC ( $F_4$  et  $F_5$ ) avaient une activité eu égard au pourcentage d'évolution des cellules tumorales.

## 2.2.2. *Tapinanthus dodoneifolius* (DC) Danser

*Tapinanthus dodoneifolius* a été étudié dans le cadre d'une étude intitulée : Caractéristiques des chloroplastes isolés à partir de deux guis originaires de la zone tempérée (*Viscum album*) et de la zone tropicale (*Tapinanthus dodoneifolius*) les résultats des investigations phytochimiques sont consignés dans les tableaux suivants :

**Tableau n° 1** : Chlorophylle, protéines et lipides polaires des chloroplastes des feuilles vertes et *T. dodoneifolius* et de *V. album*.

Material	Chla/Chlb (ratio)	Chlorophyll (Molécules plastid) x 10	Protein/Chl (u/w)	Lipid content (molécules plastid <sup>-1</sup> x 10 <sup>6</sup> )	Lipid/Chl (molar ratio)
<i>V. album</i>	2.4 ± 0.2	450 ± 88	16.1 ± 4.5	1402 ± 98	3.1 ± 0.8
<i>T. dodoneifolius</i>	2.9 ± 0.2	267 ± 97	20.8 ± 7.1	799 ± 102	2.9 ± 0.7
Higher plants	2.7 ± 3.5	500 - 1000	5 - 10	1200 - 2900	1.2 - 2.9

**Tableau n° 2** : Composition en lipides polaires des chloroplastes des feuilles vertes de *T. dodoneifolius* et *V. album*.

Material	% of total polar lipids		MG/DGDG (molar ratio)	PG Content (molécules plastid <sup>-1</sup> ) x 10 <sup>6</sup>	PG/Chl (molar ratio)
	Phospholipids	Glycolipids <sup>2</sup>			
<i>V. album</i>	20	80	1.14	158 ± 38	0.35
<i>T. dodoneifolius</i>	30	70	1.20	119 ± 42	0.45
Higher plants	20-30	80-70	1.01-1.4	180-300	0.25-0.34

**Tableau n° 3** : Composition en acides gras des classes de lipides polaires des chloroplastes des feuilles vertes de *V. album* et de *T. dodoneifolius*.

Lipid	Material	FATTY ACID (% OF TOTAL FATTY ACIDS)						DBL
		C16:0	C16:1 tr	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
PG	<i>V. album</i>	39	19	2	27	4	9	1.6
	<i>T. dodoneifolius</i>	33	24	3	27	4	9	1.7
		(18-40)	(20-38)	(1-2)	(1-3)	(1-2)	(12-40)	(1.2-3.3)
PC	<i>V. album</i>	38	0	10	14	19	19	2.2
	<i>T. dodoneifolius</i>	33	0	4	28	15	20	2.4
		(30-35)	(0)	(2-3)	(2-4)	(20-30)	(40-45)	(3.3-4.0)
PI	<i>V. album</i>	51	0	51	8	7	19	2.0
	<i>T. dodoneifolius</i>	48	0	6	12	12	22	2.0
		(70-45)	(0)	(4-6)	(4-6)	(2-3)	(20-40)	(4-2.6)
MGDG	<i>V. album</i>	2	0	1	5	7	85	5.5
	<i>T. dodoneifolius</i>	3	0	1	9	7	80	5.3
		(1-2)	(0)	(2-3)	(1-2)	(2-4)	(80-95)	(4.9-5.9)
DGDG	<i>V. album</i>	10	0	2	8	7	19	2.0
	<i>T. dodoneifolius</i>	19	0	7	12	12	22	2.0
		(2-40)	(0)	(2-8)	(1-2)	(1-2)	(60-95)	(1.6-5.9)
SODG	<i>V. album</i>	43	0	7	14	7	19	2.0
	<i>T. dodoneifolius</i>	46	0	6	6	12	22	2.0
		(32-35)	(0)	(1-2)	(2)	(3-5)	(50-60)	(3.1-3.8)

Les valeurs entre parenthèses représentent celles trouvées pour les plantes supérieures dans le non parasitisme.

**Abréviations** : DBI = Double bond index ; C16:0 = acide palmitique

C16 : 1 tr, trans-  $\Delta_3$  = acide hexadécenoïque ; C18:0 = acide stearique

C18 : 1 = acide oléique, C18 : 2 = acide Linoléique ; C18 : 3 = acide linoléique

CHI = Chlorophylle ; DGDG = Digalactosyldiacylglycerol ;

PC = Phosphatidylcholine ; PG = Phosphatidylglycerol

PI = Phosphatidylinositol ; SQDG = Sulfoquinovosyldiacylglycerol

MGDG = Monogalactosyldiacylglycerol.

C'est une étude qui donne une méthode pour isoler les chloroplastes intacts des feuilles vertes des deux guis.

Cette étude examine par ailleurs quelques principales caractéristiques de leur composition biochimique et l'activité de photosynthèse comparées à un autre parasite tropical (*striga* sp.) ou aux plantes supérieures autotrophiques. Des études effectuées sur les plantes entières ont montré qu'ils sont capables de photosynthèse bien que les taux soient bas.

Pour explorer l'efficacité des composants photosynthétiques les chloroplastes ont été isolés à partir des feuilles vertes des deux guis. On a tenu compte du fait que la photosynthèse subit les variations saisonnières.

C'est pour ces raisons que l'isolement des chloroplastes des feuilles vertes matures des guis a été fait à la période de croissance des jeunes rameaux, période où l'activité de photosynthèse est au maximum.

Cette période correspond pour *Viscum album* à l'intervalle de temps (Mai-juin) et pour *Tapinanthus dodoneifolius* à l'intervalle (Septembre-octobre).

Par comparaison aux chloroplastes des plantes supérieures autotrophiques les chloroplastes du gui sont à un bas niveau de chlorophylle et de lipides polaires, par ailleurs leurs protéines sont moins réduites.

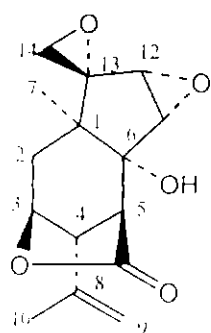
Il n'y a pas de changement significatif par rapport à la composition en lipides polaires. Par ailleurs dans les chloroplastes de *T. dodoneifolius* la proportion de phospholipide est plus élevée.

Pour les deux guis, les lipides polaires principalement les phospholipides montrent une fine diminution dans le degré d'insaturation des acides gras et une large proportion d'acide oléique. Ces résultats ont été discutés par rapport au parasitisme et à l'adaptation à la sécheresse.

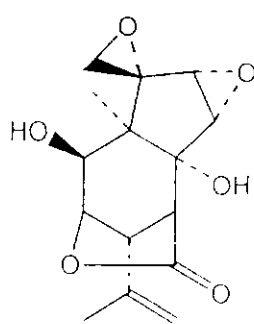
### 2.2.3. Loranthus parasiticus MERR :

Cette plante utilisée localement (en Chine) pour le traitement de la schizophrénie a intéressé les chercheurs en un premier temps pour l'isolement, la caractérisation et l'élucidation de la structure des lactones sesquiterpéniques qu'elle renferme (Okuda. *et al*, 1987).

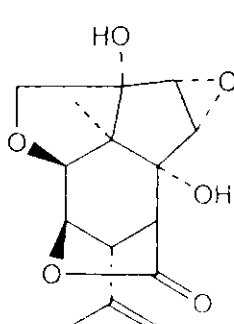
Par la suite *L. parasiticus* a fait partie du screening des extraits de plantes indonésiennes pour l'activité anti HIV-1 d'une part et de l'autre pour l'activité inhibitrice des enzymes virales (RT, AMV) (Otake *et al*, 1995 ; Kusumoto. *et al*, 1992). *L. parasiticus* est un parasite qui évolue sur *Coriaria sinica* Maxim. Ses lactones sesquiterpéniques contenues dans la corianine ont été isolées à partir d'une fraction chloroformique soluble de l'extrait EtOH des feuilles séchées. La mixture de lactones sesquiterpéniques a été séparée en quatre constituants par chromatographie sur colonne parmi eux deux composants ayant manifesté une forte activité convulsive étaient identifiés en coriamyrtine et en Tutine. Les deux autres étaient identifiés en corianine et en coriatine par comparaison directe avec les spécimens authentiques obtenus de *Coriaria japonica* A. Gray. L'élucidation des structures a été faite par résonance magnétique nucléaire ( $^1\text{H}$ -RMN ou/et  $^{13}\text{C}$ -RMN) et par évidence chimique. Les extraits éthanoliques et aqueux de 30 plantes médicinales indonésiennes auxquels figurent de ceux de *L. parasiticus* ont été testés par rapport à l'activité inhibitrice sur RT (reverse transcriptase) et sur AMV (avion myeloblastosiste virus). Les extraits aqueux et méthanoliques de la plante entière *L. parasiticus* ont figuré parmi les extraits qui ont eu une forte inhibition.



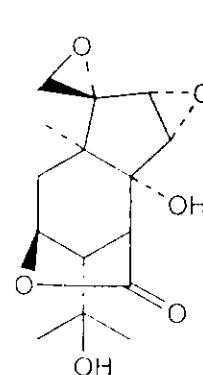
Coriamyrtine



Tutine



Corianine



Coriatine

Deux sortes d'apprêt de même taille  $(rA)_n - (dT)_{12-18}$  et  $(rC)_n - (dG)_{12-18}$  sont examinés en réaction de polymérisation. Les résultats se présentent comme suit :

- l'activité inhibitrice était forte en  $(rC)_n - (dG)_{12-18}$  en réaction directe pour la plupart des échantillons.

- les extraits ont montré une cytotoxicité non appréciable aux concentrations supérieures à 90% d'inhibition de l'activité de RT. Le test était basé sur la mesure de  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ). Les résultats chiffrés se trouvent dans le tableau qui suit :

**Tableau n ° 4** : Mesure de la concentration inhibitrice ( $IC_{50}$ )

Partie de la plante utilisée	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	$(rA)_n - P (dT)_{12-18}$		$(rC)_n - P (dG)_{12-18}$	
	Extrait MeOH	Extrait H <sub>2</sub> O	Extrait MeOH	Extrait H <sub>2</sub> O
Tronc + Branches	700	50	-	7
Plante entière	50	100	80	8

Le pourcentage en tanin des extraits aqueux de *L. parasiticus* a été :

- 5,8% pour l'extrait H<sub>2</sub>O du tronc + branches
- 6,6% pour l'extrait H<sub>2</sub>O de la plante entière.

Le taux de tanins est obtenu par la méthode décrite par Okuda *et al.*, 1977. Cette détermination est importante puisque les tanins ont été étudiés comme inhibiteurs de RT (Kadiuchi *et al.*, 1985, 1991). En ce qui concerne l'inhibition de la réplication du HIV-1 l'extrait aqueux de *L. parasiticus* a été testé avec résultat significatif.

Le nombre de plantes au screening était 30 et parmi les six (6) extraits à avoir inhibé l'extrait aqueux de *L. parasiticus* a figuré.

La mesure de la dose (ED) qui entraîne une réduction de la cytopathogénicité des cellules MT – 4 et de la dose (C D) qui entraîne la réduction de la viabilité des cellules MT – 4 a donné : ED  $\geq$  79,4  $\mu\text{g/ml}$  et CD  $\geq$  318  $\mu\text{g/ml}$ .

De façon générale les concentrations requises pour inhiber la réplication de HIV-1 était plus basse que celles requises pour inhiber la transcriptase reverse du HIV-1 lors du screening général.

#### **2.2.4. Viscum album L. :**

C'est un gui très connu en Europe qui a fait l'objet de beaucoup d'études. Ces études sont d'ordre phytochimiques et pharmacologiques. C'est une plante que nous avons eu à étudier en comparaison avec *T. dodoneifolius* par rapport aux caractéristiques des chloroplastes. Dans le cadre des investigations phytochimiques les flavonoïdes aglycones de gui évoluant sur différents arbres ont été explorés.

Trois sous espèces de *Viscum album* à savoir *platyspermum*, *abietis* et *laxum* ont été explorées aux moyens de la chromatographie (TLC, UV) et de la spectrométrie de masse.

Cela a permis d'identifier les aglycones dérivés substitués de la quercétine, qui sont répertoriés en même temps que les plantes à partir desquelles ils sont issus (BECKER et EXNER, 1977).

Au nombre de 8 ces aglycones sont : Quercétine (QU), QU-3-OCH<sub>3</sub>, QU-3''-OCH<sub>3</sub> ; QU-7-OCH<sub>3</sub>, QU-3, 3'', OCH<sub>3</sub>, QU-3, 7-OCH<sub>3</sub> ; QU-7, 3'', OCH<sub>3</sub> et QU-3, 7, 3''-OCH<sub>3</sub>.

Ces composés sont issus de différents guis qui sont : *Betula*, *Malus*, *Populus*, *Pyrus*, *Quercus*, *Salix*, *Tilia*, *Ulmus*, *Abies* et *Pinus*. La présence des huit composés aglycones à la fois a été observée au niveau du gui *Pyrus*. Quant aux composés retrouvés au sein de tous les guis ce sont : la quercétine, QU-7-OCH<sub>3</sub>, QU-3, 7, 3''-OCH<sub>3</sub> et QU-3, 7-OCH<sub>3</sub> pour lequel l'existence au sein *Ulmus* est à confirmer.

S'agissant de l'activité pharmacologique la tradition attribue au gui les propriétés hypotensives mais celles-ci mises en évidence chez le chien (Voie IV) au début du 19<sup>ème</sup> siècle ne sont pas confirmées en cliniques (per os). Les substances responsables de l'activité hypotensive transitoire observée ne sont pas identifiées et l'activité varie selon la nature de l'hôte sur lequel a été récoltée la drogue. L'activité cytotoxique du gui et de ses préparations sur différentes lignées cellulaires (*Hela*, *Sarcome 180* ...) est due aux fractions protéiques.

Les lectines sont particulièrement cytotoxiques (inhibition des cellules leucémiques humaines à des concentrations de 1 à 3 ng/ml. On note aussi des effets immunostimulants. Les viscotoxines sont également toxiques mais de façon beaucoup moins intenses elles exercent un effet cytolytiques.

S'agissant de l'emploi du gui la drogue est employée en France. Les phytothérapeutes la conseillent dans le traitement de l'hypertension et en prévention à l'athérorosclérose. La toxicité des viscotoxines et celle des lectines doit inciter à la plus grande prudence dans l'emploi de cette drogue dont le rapport bénéfice/risques n'est pas clairement établi.

D'autres pays (Allemagne, Confédération Helvétique) commercialisent un produit issu de la fermentation bactérienne du gui. Ce produit dont la composition n'est pas complètement connue est présenté comme antitumoral et utilisé dans ce but par certains praticiens en l'absence d'études approfondies démontrant clairement son intérêt. Les fruits du gui sont-ils toxiques ? Les avis divergent selon les auteurs.

Certains décrivent les intoxications sévères pour certains les baies sont dépourvues de viscotoxine et leur toxicité serait très faible. En ce qui concerne les feuilles et les préparations qui en dérivent l'ingestion d'une forte dose peut se traduire par une irritation ou une nécrose locale. Les risques liés à une automédication non contrôlée ne seraient donc pas négligeables, surtout en administration continue ; la toxicité chronique n'ayant pas été explorée (Bruneton, 1993).

### **2.3. Utilisations traditionnelles des Guis (*Tapinanthus*) :**

Les *Tapinanthus* ont un grand intérêt en ethnomédecine nous leur connaissons plusieurs utilisations. Toutes les espèces sont utilisées mais il semble que celles à petites feuilles soient plus recherchées. Les utilisations sont soit des décoctions, soit des macérations ou les usages médico-magiques.

Les *Tapinanthus* sont utilisés pour le traitement des maladies spécifiques ou pour les traitements médico-magiques.

S'agissant des maladies spécifiques ils sont utilisés seuls ou en association avec d'autres remèdes.

Les maladies soignées sont : la toux, les affections des voies respiratoires, les bronchopathies, les pneumopathies, la gonococcie, la bilharziose, les douleurs menstruelles.

Enfin le gui, est considéré comme ayant des propriétés médicales, spécialement comme fortifiant ou pour arrêter les vomissements.

Pour ce qui est des usages dans la médecine magique ils sont nombreux. On admet qu'il peut y avoir des variations dans l'action selon la nature de l'hôte.

Les *Tapinanthus* jouent un grand rôle dans la médecine magique et leur indication majeure concerne les traitements de la stérilité.

Les traitements médico-magiques abondent pour l'impuissance, les envoûtements, les différentes manœuvres de sorcellerie. Dans ces cas-là on choisit un *Tapinanthus* d'arbre sacré récolté avec l'accompagnement habituel de prières et d'offrandes selon des rites déterminés.

A un degré moindre, mais encore important, les *Tapinanthus* font partie des préparations destinées aux malades mentaux.

Il existe une recommandation particulière pour la récolte des *Tapinanthus*. Cette recommandation très importante partout en Afrique de l'Ouest est la suivante : ne pas laisser tomber par terre au cours de la récolte les *Tapinanthus* destinées à la préparation des médicaments et aux autres usages médico-magiques (Kerharo et Adam, 1974 ; Adjanohoun *et al*, 1981 ; Malgras, 1992).

#### **2.4. Répartition géographique du karité :**

Puisqu'on ne peut dissocier l'existence du *Tapinanthus* de celle de la plante hôte, nous allons donner ici la répartition géographique du karité ; plante hôte des *Tapinanthus* de notre étude.

Le karité occupe une bande d'environ 5000 km de longueur s'étendant du Sénégal oriental jusqu'au Nord-Ouest de l'Ouganda, soit du 16<sup>ème</sup> degré de longitude Ouest au 34<sup>ème</sup> degré de longitude Est.

La longueur de la bande varie de 400 à 750 km. L'aire du karité couvre environ un million de km<sup>2</sup>. Elle est entièrement comprise dans la région occupée par les savanes et forêts soudaniennes.

Il est intéressant de remarquer que le karité n'approche nulle part des côtes.

En 1952 l'IRHO (Institut de Recherche sur les Huiles et Oléagineux) rapportait que les peuplements les plus denses se rencontraient au Sud du Mali, au Burkina Faso, au Nord de la Côte d'Ivoire, du Ghana, du Togo, du Bénin et du Nigéria (Sallé *et al*, 1991).

Le karité est l'arbre typique des forêts sèches claires et savanes arborées de la zone soudanienne (Schnell, 1976) et une pluviosité comprise entre 500 et 1200 mm par an. Il se développe préférentiellement sur sol sablo-argileux ou argilo-silicieux évitant les zones régulièrement inondées (Picasso, 1984).

(Pelissier, 1980) reprenant (Aubreville, 1950) explique en partie la répartition du karité par des raisons anthropiques (Sallé *et al*, 1991).

## **2.5. Description botanique des Guis n° 1 et n° 2 :**

### **GUI N° 1 : *Tapinanthus pentagonia* (D C) Van Tieghem**

Les feuilles sont opposées, simples et entières. Le limbe est aussi large que long, large de 5 à 6 cm, long de 8 à 9 cm. Le limbe est pétiolé de 10 à 15 mm. Les fleurs sont de couleur rouge à maturité mais jaunâtre avant maturité. Les lobes du périanthe sont valvaires unis en un tube.

### **GUI N° 2 : *Tapinanthus dodoneifolius* (D C) Danser**

Les feuilles sont linéaires, lancéolées 3 à 4 fois plus longues que larges, longues de 8 à 15 cm, larges de 1 à 2 cm (parfois 3). Le limbe est glauque, glabre, pétiolé de 3 à 10 mm. Les fleurs sont mauves, tubulaires, glabres, sessiles, longues de 4 à 5 mm avec un tube sortant coudé d'une base globuleuse. Le sommet de la fleur se fend en deux parties, l'une à trois lobes, l'autre à deux. La fleur reste dressée (Berhaut, 1967).

*(Tapinanthus dodoneifolius)*

Figure 1



*(Tapinanthus pentagonia)*



Figure 2

## **CHAPITRE III : METHODOLOGIE**

- 1) COLLECTE DES DONNEES
- 2) MATERIEL VEGETAL
- 3) EXTRACTION
- 4) ETUDES PHYTOCHIMIQUES
- 5) TESTS BIOLOGIQUES

**1. COLLECTE DES DONNEES** : Les informations recueillies sur les plantes proviennent de l'enquête ethnobotanique et de la revue de littérature, effectuées entre novembre 1999 et février 2000. Les enquêtes se sont déroulées sur deux lieux : Kolokani et Bamako. Au total 19 personnes ont été enquêtées et la répartition est la suivante par localité :

- Neuf (9) personnes pour Kolokani toutes de sexe masculin
- Dix (10) personnes à Bamako dont 6 hommes et 4 femmes.

Par entretien, nous avons accédé aux informations en utilisant deux approches.

La première approche a consisté à demander aux personnes enquêtées les plantes utilisées dans le traitement traditionnel des MST.

La deuxième a consisté à leur demander les utilisations traditionnelles des Guis d'une manière générale et de façon spécifique les utilisations traditionnelles des guis de karité.

Pour faciliter l'enquête, nous avons donné un intéressement à toutes les personnes enquêtées qui ont toutes reçues de l'argent.

L'objectif pour nous a été de savoir si les *Tapinanthus* entrent en ligne de compte dans les préparations destinées aux traitements traditionnels des MST.

**2. MATERIEL VEGETAL** : Deux types de gui du karité ont été concernés par notre étude. Nous avons adopté les annotations. G<sub>1</sub> pour le gui n° 1 (*Tapinanthus pentagonia*) et G<sub>2</sub> pour le gui n° 2 (*Tapinanthus dodoneifolius*).

- **Récolte** : La récolte des plantes a été faite entre Septembre et Octobre 1999. A cette période la croissances des jeunes rameaux se fait et l'activité de photosynhtèse est au maximum.  
Les plantes ont été récoltées à la périphérie de Bamako dans la forêt classée de Koulouba.  
L'identification du matériel végétal a été faite sur le terrain et au Département de Médecine Traditionnelle (DMT). Les spécimen des espèces étudiées sont disponibles dans l' « **Herbier** » du Département.
- **Séchage** : Le séchage a lieu à l'ombre à la température ambiante. Nous avons disposé de claies sur lesquelles nous avons étalé les plantes récoltées pendant quelques jours, voire une semaine.

- **Pulvérisation** : Cette opération a été faite après séchage des plantes récoltées. Nous avons utilisé un broyeur (Retsch type SM 200, 230 V) pour avoir de la poudre fine. Au préalable la plante entière a été concassée dans un mortier traditionnel.

### **3. EXTRACTION** :

#### **3.1. Matériel** :

- Balance analytique de précision, type SARTORIUS A 200 S
- Ballon
- Rotavapor (Vacum Rotary Evaporator, type 349/2)
- Bain-marie
- Entonnoir
- Coton
- Papier filtre
- Solvants
- Lyophilisateur
- Flacon
- Fiole

#### **3.2. Technique** :

Les poudres obtenues de la pulvérisation des plantes de l'étude ont été soumises à l'extraction.

100 grammes de poudre de la plante entière ont été introduits dans une fiole contenant 600 ml d'éthanol à 80% pour une macération de 24 heures. Filtrer et reprendre le résidu avec de l'éthanol toujours à 80% pour une nouvelle macération de 72 heures. Les filtrats obtenus des macérations de 24 heures et de 72 heures ont été recueillis dans des ballons tandis que le résidu a servi à d'autres extractions.

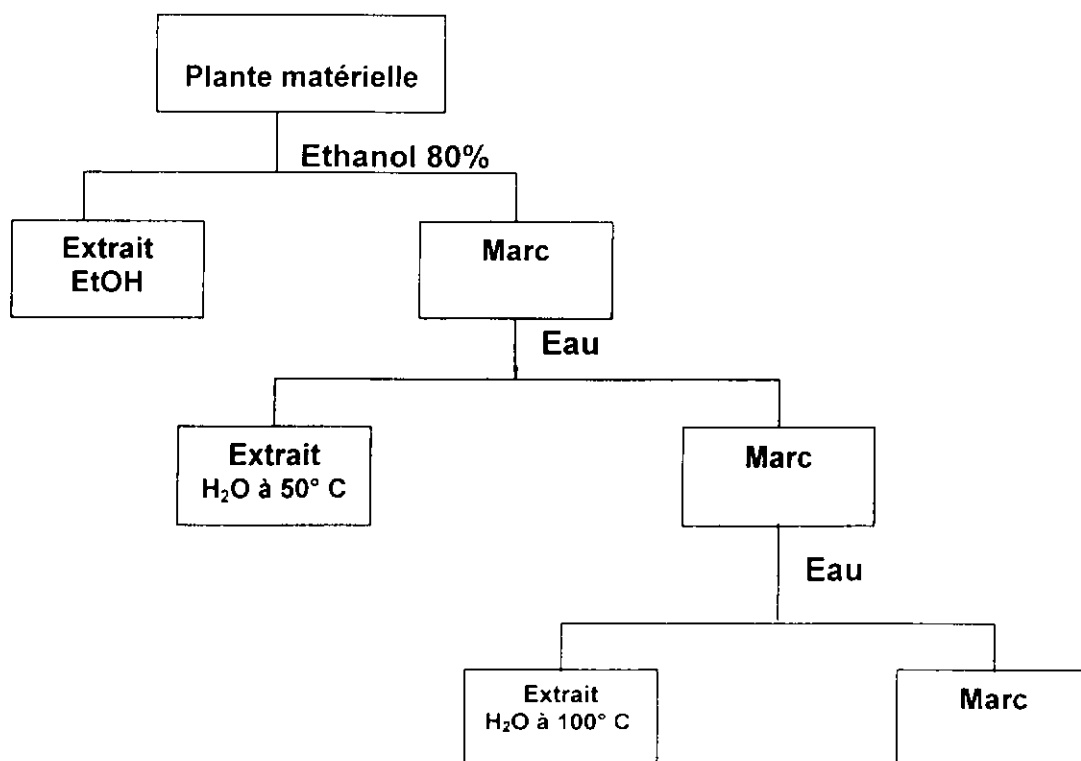
Pour obtenir l'extrait aqueux nous avons extrait le résidu issu des macérations avec l'eau à 50° C et à 100° C en faisant une décoction. Par la suite les filtrats alcooliques et aqueux ont été concentrés sous pression réduite à l'aide d'un Rotavapor à la température de 40° C.

Après concentration les extraits liquides ont été lyophilisés.

Nous avons utilisé un lyophilisateur (Heto-Drywinner, Model DW 1,0-60<sup>E</sup>). La lyophilisation a continué jusqu'à la disparition de l'humidité au sein de l'extrait. Le temps utile a varié pour cela entre 24 heures et 48 heures.

Les extraits ont été soigneusement gardés dans des piluliers avant leur utilisation pour les tests biologiques et les analyses phytochimiques.

### 3.3. Schéma d'extraction :



### 3.4. Séparation des constituants :

Nous avons utilisé la chromatographie sur couche mince pour la séparation des constituants de l'extrait.

Plusieurs systèmes de solvant ont concerné notre screening mais nous avons retenu celui avec lequel la migration des composés a été meilleure. Ont été considérés dans le choix du système de solvant le R<sub>f</sub> (rapport frontal) des constituants et leur vitesse de migration, vitesse qui a permis une bonne séparation.

#### 4. ETUDES PHYTOCHIMIQUES :

##### Les réactions en tube :

Les études analytiques ont été faites à partir des techniques standards du Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'INRSP.

##### 4.1. Alcaloïdes

##### Solution à analyser :

Introduire 10 g de poudre dans un erlenmeyer de 250 ml sur lesquels nous avons ajouté 50 ml d'acide sulfurique dilué, puis boucher l'erlenmeyer.

Agiter et laisser macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire, filtrer sur papier et laver à l'eau, de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

##### Caractérisation des alcaloïdes :

##### Réaction de précipitation :

Prendre 2 tubes à essais, introduire 1 ml de filtrat, ajouter cinq gouttes de réactif de Mayer dans le tube n° 1 et cinq gouttes de réactif de Dragendorff dans le tube n° 2.

En laissant reposer les tubes pendant 10 minutes, les résultats ont été évalués comme suit :

Précipité abondant (+++)

Précipité moyen (+ +)

Précipité louche (+)

Test négatif = 0

Nous avons opéré par rapport à un témoin de strychnine. La méthodologie prévue pour l'extraction des alcaloïdes était la suivante :

Introduire 25 ml de filtrat dans une ampoule à décanter. Le filtrat est alcalinisé avec l'ammoniaque jusqu'à odeur (pH : 8 à 9). Ajouter du chloroforme dans un volume égale à la solution alcaline.

Cette opération est reprise 3 fois au total, réunir les phases organiques et sécher sur du sulfate de sodium anhydre, puis filtrer et partager équitablement entre deux capsules qui sont mises au bain-marie à l'évaporation jusqu'à sec.

Reprendre le résidu sec dans la première capsule par 2 ml d'acide chlorhydrique dilué. La solution obtenue est partagée entre deux tubes à essai et essayer les révélateurs généraux des alcaloïdes (réactifs de Dragendorff et de Mayer).

#### **- Alcaloïdes des solanacées mydriatiques :**

Le résidu sec contenu dans la deuxième capsule est repris par un 1 ml d'acide nitrique fumant, placer cette capsule au bain-marie bouillant jusqu'à évaporation à sec.

Après refroidissement, introduire dans la capsule 10 ml d'acétone pur et ajouter goutte à goutte la solution KOH à 5% dans l'éthanol fraîchement préparée.

En présence d'alcaloïdes des solanacées mydriatiques (extrait de l'acide tropique et du tropanol), il se développe une coloration violette (réaction de Vitali-Morin ).

#### **4.2. Substances polyphénoliques**

##### **▪ Solution à analyser :**

Introduire 5 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Arrêter l'ébullition et refermer l'erlenmeyer d'un verre de montre ou le surmonter d'un entonnoir et laisser infuser 15 minutes.

Ensuite filtrer sur papier et rincer avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

#### **Caractérisation :**

##### **Tanins :**

Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5 % et ajouter 1 ml de solution aqueuse diluée de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

Pour caractériser la présence de tanins catéchiques, ajouter 5 ml d'infusé (à 5%), un ml d'acide chlorhydrique concentré, puis porter à ébullition pendant 10 minutes. L'observation d'un précipité rouge soluble dans l'éthanol amylique indique une réaction positive.

La différenciation des tanins (catéchiques et galliques) est obtenue par la réaction de Stiasny :

A 30 ml d'infusé à 5 %, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny puis chauffer au bain-marie pendant 15 à 30 mn. L'obtention de précipité montre la présence de tanins catéchiques. Filtrer et saturer le filtrat avec 10 ml d'une solution d'acétate de sodium pulvérisé, puis ajouter quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1 % (1 ml).

Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

Les tanins peuvent être également précipités par addition de gélatine salée à 1 % à l'infusé.

## Flavonoïdes

A 5 ml d'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter 5 ml de  $H_2SO_4$ , puis 5 ml de  $NH_4OH$ . Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, nous avons conclu à la présence d'anthocyane.

### Réaction à la cyanidine :

Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé, ajouter 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95<sup>0</sup>, eau distillée, acide chlorhydrique concentré à parties égales : 5 ml) puis quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique.

L'apparition d'une coloration :

Rose-orangée —————> flavones

Rose-violacée —————> flavones

Rouge —————> (flavonol, flavononols)

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones.

Effectuer la réaction de la cyanidine sans ajouter de copeaux de magnésium et chauffer pendant 10 mn au bain-marie en présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacé ; les catécholes donnent une teinte brun rouge.

### **4.3. Dérivés anthracéniques**

#### Solution à analyser :

#### Extrait chloroformique :

A 1 gramme de drogue en poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer prudemment pendant 3 minutes au bain-marie. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire.

#### Hydrolysats :

A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, ajouter 10 ml d'eau distillée et 1ml d'acide chlorhydrique concentré, puis maintenir le tube à essais dans un bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Refroidir le tube sous un courant d'eau et filtrer.

## **Caractérisations :**

### **Anthracéniques libres** : Réaction de Borntrager

Introduire dans un tube à essai 1ml d'extrait chloroformique préparé, ensuite ajouter 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  diluée, puis agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres.

### **Anthracéniques combinés :**

#### **O - hétérosides** : Réaction de Borntrager

Prélever 5 ml d'hydrolysate préparé ci-dessus et agiter avec 5 ml de chloroforme. Soutirer la phase organique l'introduire dans un tube à essai et garder la phase aqueuse. Ajouter à la phase organique 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilué, agiter.

La présence d'antraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense. En cas de réaction négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides à génine réduite : prélever 5 ml de l'hydrolysate préparé ci-dessus et ajouter 3 à 4 gouttes de chlorure ferrique à 10 %. Chauffer pendant 5 minutes au bain-marie et refroidir sous un courant d'eau. Agiter avec 5 ml de chloroforme, et soutirer la phase chloroformique, l'introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml  $\text{NH}_4\text{OH}$  diluée, puis agiter.

En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthranones, la coloration rouge est plus ou moins intense que précédemment.

#### **C-hétérosides** :

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée par 10 ml d'eau et ajouter 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10 %. Maintenir le tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes, puis refroidir sous un courant d'eau, agiter avec 5 ml de chloroforme ; ajouter 1 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  et agiter.

Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génine de C-hétérosides.

#### **Réaction de Brissemoret et Combes** : Différenciation des quinones

Introduire 1 g de poudre dans un erlenmeyer de 250 ml et ajouter 20 ml d'un mélange (à volume égal) d'éther pendant 24 heures ; filtrer et placer 5 ml de filtrat dans une capsule ; laisser évaporer à l'air ; reprendre le résidu par quelques gouttes d'éthanol à 95° ; ajouter goutte à goutte une solution d'acétate de nickel à 5% selon la nature de la quinone ; on obtient une coloration variable.

- Benzoquinones = Coloration bleue et précipité
- Naphtoquinones = Coloration violette et précipité
- Anthraquinones = Coloration rouge sans précipité.

#### **4.4. Stérols et triterpènes :**

Introduire dans un tube à essai 1 gramme de poudre et 20 ml d'éther ; boucher et agiter, puis laisser en contact pendant 24 heures. Après ce temps filtrer et compléter à 20 ml avec de l'éther.

##### **Caractérisation :** Réaction de Liebermann-Burchard

Evaporer à sec dans une capsule 10 ml d'extrait, dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique plus 1 ml de chloroforme et recueillir dans 2 tubes à essai.

L'un servira de référence ; ajouter 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube à essai à l'aide d'une pipette. Ne pas agiter.

A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et de triterpènes.

##### **Caroténoïdes :** Carr et Price

Evaporer 5 ml d'extrait éthéré dans une capsule jusqu'à sec, ajouter 2 à 3 gouttes de solution saturée de chlorure d'antimoine dans du chloroforme (ou dans le tétrachlorure de carbone). Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue rouge par la suite.

#### **4.5. Hétérosides cardiotoniques :**

Introduire 1 gramme de poudre dans un tube à essai, puis ajouter 10 ml d'éthanol à 60%, et 5 ml d'une solution d'acétate de plomb neutre à 10 %. Ensuite porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes, filtrer sur coton.

##### **Caractérisation :**

Agiter le filtrat avec 10 ml de chloroforme dans un tube à essai, éviter la formation d'une émulsion ; laisser décanter et soutirer à l'aide d'une pipette la phase chloroformique et la partager entre trois tubes à essai ; évaporer au bain-marie bouillant jusqu'à sec ; reprendre le résidu par 0.4 ml d'isopropanol.

Ajouter dans les trois tubes :

- Tube 1 : 1 ml de réactif de Baljet
- Tube 2 : 1 ml de réactif de Keede
- Tube 3 : 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud

Introduire dans chaque tube, 4 gouttes de potasse à 5% dans l'éthanol. En présence de caroténoïdes, les colorations suivantes se développent :

- Tube 1 : coloration orangée
- Tube 2 : coloration rouge-violacée
- Tube 3 : coloration violet-fugace

#### 4.6. Saponosides :

##### Décocté à 1 % :

A l'aide d'un erlenmeyer de 250 ml, faire une décoction de 1 g de poudre dans 100 ml d'eau distillée. Chauffer pendant 15 minutes tout en maintenant une ébullition modérée. Filtrer après refroidissement et ajuster à 100 ml.

##### Caractérisation :

Dans une série de 10 tubes à essai de 160 x 16 mm, numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2, ..... 10 ml de décocté à 1 % préparé, ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée, agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15 minutes et mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm permet de calculer de l'indice de mousse.

$$\text{Indice de mousse (Idm)} = \frac{1000}{\text{N}^\circ \text{ du tube à 1 cm de hauteur de mousse}}$$

#### 4.7. Autres Caractérisations :

Faire une décoction à 10% dans l'eau distillée.

##### Composés réducteurs :

Evaporer à sec au bain-marie 5 ml de décocté à 10 % placée dans une capsule, ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling. L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

##### Oses et holosides :

Introduire 5 ml de décocté à 10 % dans une capsule et évaporer à sec au bain-marie, ajouter au résidu 2 à 3 gouttes d'acide sulfurique, après 5 minutes, ajouter 3 à 4 gouttes d'éther saturé avec du thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et d'holosides.

### **Mucilages** :

Introduire 1 ml de décocté aqueux à 10 % dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'éther absolu. L'obtention d'un précipité floconneux par mélange après 10 à 15 mn agitation indique la présence de mucilages.

### **Hétérosides cyanogénétiques** :

Dans un tube à essai, introduire 1 gramme de poudre puis 5 ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène. Bien agiter et nettoyer la partie supérieure du tube à essai. Le papier picrosodé fraîchement préparé est fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube (sans tremper dans la solution).

La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

### **Coumarines** : Fluorescence UV 366 nm

Evaporer 5 ml d'extrait éthéré (macération pendant 24 heures) dans une capsule et à l'air libre. Ajouter au résidu 2 ml d'eau chaude et partager la solution entre deux (2) tubes à essai, puis ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml d'ammoniaque à 25 %. Mélanger et observer la fluorescence sous U.V 366nm, une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

## **4.8. Dosage de l'eau** :

**4.8.1. Méthode pondérale** : C'est la détermination de la perte de poids par dessiccation à l'étuve.

### **Mode opératoire** :

Opérer en utilisant les verres de montre préalablement chauffés, après refroidissement les peser. Utiliser au total 5 verres de montre.

La masse du verre de montre vide = tare.

Prendre 1 à 2 g de poudre, dans les différents verres de montre, peser et obtenir ainsi la masse totale avant étuve. Placer les différents verres de montre à l'étuve à 110° pendant 24 heures, puis peser, c'est la masse totale après étuve. Partant de ces données, calculer le pourcentage d'eau sachant que :

Masse drogue essai = Masse totale avant étuve - Tare

Masse eau = Masse totale avant étuve - Masse totale après étuve.

$$\% \text{ eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Masse drogue essai}} \times 100$$

#### **4.8.2. Méthode volumétrique :**

**Principe :** C'est le dosage de l'eau par entraînement azéotropique. L'eau est entraînée par distillation d'un solvant qui ne lui est pas miscible.

##### Mode opératoire :

Nous avons utilisé la technique au toluène ; introduire dans un ballon sec de 250 ml, 120 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée.

Laisser distiller pendant une heure de temps, puis refroidir pendant une demi-heure ; lire le volume d'eau avec une précision 0,05 ml près. Introduire dans le ballon une prise d'essai 5 g de poudre d'extrait et chauffer le ballon pendant une heure de temps, laisser refroidir le ballon pendant une demi-heure, puis lire le volume d'eau.

Soit  $V_0$  le 1<sup>er</sup> volume

$V_t$  le 2<sup>ème</sup> volume

$$\text{Le \% d'eau dans la drogue} = \frac{(V_t - V_0)}{\text{Masse prise d'essai}} \times 100$$

L'opération dure trois heures de temps.

#### **4.9. Dosage des cendres :**

##### **4.9.1. Dosage des cendres totales :**

##### Mode opératoire :

Dans cinq creusets en quartz à fond plat préalablement chauffés au rouge, refroidis et tarés, introduire une prise d'essai de 1 à 5 grammes pesés dans chacun des creusets.

La masse totale avant calcination = tare + masse de la prise d'essai.

En général, nous avons utilisé les prises d'essai ayant servi de dosage de l'eau. Placer les différents creusets dans le four à 800° C. Après disparition de toute particule noire, laisser refroidir les creusets avec les cendres dans un dessiccateur et les peser, c'est la masse totale après calcination et à partir de ces données, nous avons calculé le pourcentage des cendres totales sachant que :

Masse drogue essai = masse totale avant calcination - tare

Masse cendre = masse totale après calcination - tare

$$\text{Pourcentage cendre} = \frac{\text{masse de cendre}}{\text{masse drogue essai}} \times 100$$

#### **4.9.2. Dosage des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 % :**

##### **Mode opératoire :**

Ajouter aux cendres totales 20 ml d'acide chlorhydrique à 10% puis chauffer dans une fiole conique pendant 30 minutes au bain-marie, filtrer sur un filtre sans cendres et laver le résidu insoluble à l'eau très chaude, puis incinérer le filtre et le résidu insoluble séché jusqu'à masse constante, laisser refroidir et peser. Calculer ensuite le pourcentage des cendres insolubles dans HCl à 10% sachant que :

Masse creuset vide = tare

Masse creuset + filtre séché = Masse totale avant calcination

Masse creuset + filtre calciné = Masse totale après calcination

Masse drogue essai = Masse après calcination - tare.

Masse des cendres insolubles = Masse totale après calcination - tare

$$\text{Pourcentage des cendres insolubles dans HCl à 10\%} = \frac{\text{masse cendres insolubles}}{\text{masse drogue essai}} \times 100$$

#### **4.9.3. Dosage des cendres sulfuriques H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50% :**

Mode opératoire : On utilise un creuset de silice ou de platine qu'on porte au rouge. Après refroidissement dans un dessiccateur on tare le creuset. La prise d'essai de 2 à 3 g exactement pesée est placée dans celui-ci, la mouillée avec une quantité suffisante d'acide sulfurique préalablement diluée avec un volume égal ; chauffer au bain marie jusqu'à évaporation à sec puis le placer au four à 800°C. Après calcination, laisser refroidir dans le dessiccateur. Calculer le taux de cendres sulfuriques en les rapportant à 100 g de substances.

$$\text{Pourcentage de cendres sulfuriques} = \frac{\text{Masse cendres}}{\text{Masse drogue essai}} \times 100$$

Sachant que creuset vide = tare

Masse drogue essai = masse totale après calcination - tare

Masse cendre = masse totale après calcination - tare.

#### **4.10. Tétrahydrocannabinols (THC) : Réaction de Beam**

Ce test est effectué à la recherche de stupéfiants (THC) :

- Peser 0,5 g de poudre et l'introduire dans un tube à essai
- Ajouter 5 ml d'éther de pétrole et agiter pendant 15 minutes
- Décanter la phase éthéro-pétrolique dans une capsule
- Evaporer au bain-marie jusqu'à sec
- Ajouter 3 à 4 gouttes de KOH à 5% dans l'alcool

La coloration violette indique une réaction de Beam positive.

#### **4.11. Technique de la CCM :**

Nous avons utilisé des plaques avec des supports en verre ou en aluminium. La plaque est recouverte d'adsorbant dont l'épaisseur est d'environ  $250\mu$ .

Sur des plaques de format 10 x 10 cm déposer les substances à séparer à environ 1 cm du bord inférieur à l'aide d'une micropipette. Après les dépôts, faire évaporer complètement le solvant de dilution de l'extrait.

Placer les plaques ensuite dans une cuve de développement dans laquelle se trouve un solvant approprié jusqu'à une hauteur de 0,50 cm environ. Auparavant s'assurer que l'atmosphère dans la cuve est saturée, pour cela prendre un temps minimum de 15 mn entre la mise du solvant dans la cuve et l'introduction des plaques.

La migration du solvant d'élution entraîne les substances contenues dans l'extrait de plante à des vitesses variées appelées vitesses de migration. Il se forme des tâches qui caractérisent les substances existantes. La distance suffisante pour l'élution est d'environ 8 cm à partir de la ligne de départ.

Les facteurs qui sous tendent la séparation des substances peuvent être des phénomènes d'absorption, de partage ou d'échange d'ions ou encore une combinaison des différentes propriétés. Quand le front de solvant a parcouru la distance suffisante retirer la plaque de la cuve, la faire sécher.

Révéler les substances séparées. La révélation a été faite à l'UV à 254 nm et à 366 nm et à l'aide du réactif de Godin.

Godin a l'avantage d'être un réactif polyvalent. Chaque substance a été identifiée par son  $R_f$  dans un système de solvant précis, par sa fluorescence sous UV ou par sa couleur après révélation de Godin.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}}$$

Rf. doit être inférieur ou égal à 1.

Nous avons utilisé les annotations suivantes pour caractériser les substances :

Substances révélées à 254 nm

Substances révélées à 366 nm

Substances révélées par Godin.

S'agissant des plaques, nous avons utilisé des plaques aluminium silicagel G<sub>60</sub> F<sub>254</sub>.

## 5. TESTS BIOLOGIQUES :

### 5.1. Détermination de l'activité antifongique :

Nous avons utilisé la méthode Bioautographique d'agar recouvrant les plaques.

#### 5.1.1. Principes de la méthode Bioautographique :

La méthode Bioautographique peut être considérée comme la méthode la plus rapide pour la détection des substances antifongiques parce qu'elle permet non seulement la localisation de l'activité à la surface de la plaque mais aussi l'isolement des constituants actifs à travers une cible.

#### 5.1.2. Méthode :

Les chromatogrammes obtenus après migration des substances par chromatographie sur couche mince sont placés dans des boîtes de pétri. Déposer au fond de chaque boîte du papier buvard imbibé d'eau. Ensuite déposer les plaques CCM sur les papiers buvards imbibés d'eau. L'usage du papier buvard imbibé d'eau s'explique par le fait qu'il faut maintenir l'humidité dans l'enceinte de la plaque.

Faire couler sur la plaque un milieu de culture incorporé du microorganisme. La quantité du milieu de culture est fonction des dimensions de la plaque. Pour une plaque de (10 x 10 cm) la quantité de milieu de culture a été de 10 ml. Cette quantité est rapidement distribuée sur la surface de la plaque à l'aide d'une pipette stérile.

Après solidification du milieu à la température ordinaire, les différentes boîtes sont fermées, elles sont ensuite incubées pendant 24 heures à 37° C. Après incubation, les Bioautogrammes sont arrosés avec une solution aqueuse de bleu de Tetrazolium (*Méthylthiozolyl tetrazolium* 2,5 mg/ml). Incuber la plaque arrosée pendant 4 heures à 37° C.

Il se développe une coloration violette avec des points translucides indiquant les substances actives. Les colonies de *Candida albicans* sont colorées au violet ainsi que celles de *Escherichia coli*.

Les parties non colorées correspondent aux substances actives ayant inhibé la croissance du germe étudié.

Tous les extraits de plantes de l'étude ont été soumis à la même technique et au terme des tests ceux qui ont une activité ont été recensés.

Pour la conservation des plaques, elles ont été giclées avec de l'éthanol afin de tuer les microorganismes, puis l'agar est séché avec précaution pour éviter le phénomène de craquellement. Les plaques peuvent être ensuite recouvertes de feuilles de plastique transparent pour une conservation de longue durée.

#### **Germes tests :**

Nous avons utilisé les germes suivants :

Souches de *Candida albicans* obtenues à partir de prélèvements vaginaux effectués au niveau du service de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), laboratoire de l'hippodrome.

Les souches d'*Escherichia coli* sont obtenues à partir de la même source (INRSP) et sont issues des prélèvements fécaux. Faute d'avoir une souche de référence les souches d'*E. coli* ont été soumises à la galerie API 20 E.

#### **5.1.3. Milieux de culture :**

Nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- Sabouraud gelose
- Sabouraud gelose/Chloramphénicol
- Sabouraud soja.

##### **- Préparation de la gelose Sabouraud :**

Mettre en suspension 45 g de poudre de la gelose dans 1 litre d'eau distillée.

Bien mélanger, échauffer en agitant, porter à ébullition, répartir entre les flacons.

Autoclaver à 118° C pendant 15 minutes, éviter toute surchauffe.

##### **- Préparation de la gélose soja :**

Mettre en suspension 45,5 grammes de poudre de gelose dans un litre d'eau distillée, mélanger, chauffer en agitant.

Porter à ébullition et autoclaver à 118° C pendant 15 minutes, éviter toute surchauffe.

##### **- Préparation de la gelose Sabouraud/Chloramphénicol :**

Même préparation que la gélose Sabouraud. Ici le chloramphénicol joue un rôle important. C'est un antibiotique à large spectre thermostable et permet l'isolement des champignons par élimination des germes saprophytes. Ce milieu est particulièrement recommandée pour les ensemencements souillés.

#### **5.1.4. Identification et conservation de souches de *C. albicans* :**

##### **5.1.4.1. Identification de *Candida albicans* :**

Les travaux ont porté uniquement sur les prélèvements vaginaux. L'identification de *Candida albicans* peut se faire soit par examens microscopiques, soit par culture ou par culture suivie de coloration de Gram.

- **Examens microscopiques** : Faire une observation microscopique entre lame et lamelle de l'écourvillon.

Les caractères microscopiques que nous avons considérés ont trait à l'aspect des cellules. *Candida albicans* correspond à des cellules levuriques, rondes, ovalaires parfois bourgeonnantes.

- **Culture** :

Nous avons utilisé le milieu Sabouraud simple ou le milieu Sabouraud + Chloramphénicol coulé en boîte de pétri. La culture s'effectue par passage de l'écourvillon de prélèvement sur le milieu de culture incorporé dans la boîte de pétri et incubé à 37° C pendant 24 heures.

Les caractères d'identification sont l'aspect des colonies, la couleur et l'odeur. On observe des colonies crémeuses blanches de *C. albicans* à odeur caractéristique (de lait caillé).

Le milieu d'identification Sabouraud-Chloramphénicol permet le développement des spores de *C. albicans* uniquement.

- **Coloration de Gram** :

Prélever dans la boîte de Pétriensemencée une colonie de levures. Réaliser un frottis sur lame, le laisser et le fixer. Après préparation de la lame on fait la coloration de Gram proprement dite. Faire l'observation microscopique à l'objectif 100 en immersion.

On voit des cellules levuriformes, colorées en violet, groupées ou en chaînettes.

- **Test de filamentation** :

C'est un préalable aux tests biologiques car il atteste de l'authenticité de la souche de *Candida albicans*.

Par ce test on met en évidence la production de filaments caractéristiques de *Candida albicans*. 98% des souches de *Candida albicans* produisent des filaments. Ensemencer la souche dans un tube contenant du sérum de cheval ou du sérum humain.

L'inoculum doit être suffisant pour donner un très léger trouble dans le milieu (0,5 ml de sérum pour une colonie de *Candida*).

L'observation des filaments se fait au microscope après 3 heures d'incubation à 37° C. *C. Candida stellatoïde* peut donner également des filaments [25].

#### **5.1.4.2. Conservation des souches :**

La conservation se fait sur milieu Sabouraud-chloramphenicol coulé en tube incliné.

Principe : Prendre une jeune colonie de 24 heures et ensemencer la sur la gélose en tube. Incuber pendant 24 heures à 37° C.

Après incubation garder le tube en aérobose (les tubes ne sont pas hermétiquement fermés).

**N.B** : Les souches de *Candida albicans* doivent être repiquées tous les deux mois (tests antifongiques IPP/JF/09.99).

#### **5.1.5. Solution à tester et témoins :**

##### Solutions à tester :

Les extraits de plantes devant subir les tests biologiques ont été utilisés à des concentrations progressives allant de 10 mg/ml à 60 mg/ml. La dissolution des extraits a été faite de la manière suivante :

Les extraits aqueux ont été dissous dans l'eau distillée tandis que les extraits éthanoliques ont été dissous dans l'éthanol.

##### Témoins pour le test :

Les témoins généralement utilisés pour les tests antifongiques sont : L'Itraconazole, le Miconazole, la Griséofulvine et la Nystatine. Le test antifongique sur *Candida albicans* : Bioautographie « Agar Overlay » recommande l'utilisation de la Nystatine comme témoin en solution chloroformique à 1 mg/ 10 ml.

Pour attester la sensibilité de notre souche de *Candida albicans* à la Nystatine on a procédé à la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Cette CMI a été de 62,5 ug/ml observée en A<sub>4</sub>.

Pour le test nous avons utilisé 100 ug/ml.

### Détermination de la CMI :

Cette détermination correspond en un premier temps à des dilutions successives suivi de l'incorporation de l'antifongique dilué dans la gelose. Nous avons utilisé la Nystatine dosée à 100.000 UI (1 comprimé de mycostatine<sup>R</sup> correspond à 999,6 mg pour 100.000 UI).

$$\begin{array}{l} 1 \text{ comprimé soit } 999,6 \text{ mg} \longrightarrow 100.000 \text{ UI} \\ 40 \text{ mg} \longrightarrow x \\ x = 4001,6006 \text{ UI} \end{array}$$

Dissolution : Dissoudre 40 mg de Nystatine dans 10 ml d'eau physiologique.

### Préparation de la solution-mère :

Prendre 2 ml de la solution de dissolution pour 8 ml d'eau physiologique. Cela correspond à une dilution au 1/5<sup>ème</sup> soit 4001,6006 UI : 5 = 800,32 UI

### Dilutions en série :

#### Série A :

- A<sub>1</sub> ----- 2 ml de 800,32UI + 2 ml de solvant
- A<sub>2</sub> ----- 1 ml de 800,32UI + 3 ml de solvant
- A<sub>3</sub> ----- 0,5 ml de 800,32UI + 3,5 ml de solvant
- A<sub>4</sub> ----- 0,5 ml de 800,32UI + 7,5 ml de solvant

#### Série B :

- B<sub>1</sub> ----- 2 ml de A<sub>4</sub> + 2 ml de solvant
- B<sub>2</sub> ----- 1 ml de A<sub>4</sub> + 3 ml de solvant
- B<sub>3</sub> ----- 0,5 ml de A<sub>4</sub> + 3,5 ml de solvant
- B<sub>4</sub> ----- 0,5 ml de A<sub>4</sub> + 7,5 ml de solvant

#### Série C :

- C<sub>1</sub> ----- 2 ml de B<sub>4</sub> + 2 ml de solvant
- C<sub>2</sub> ----- 1 ml de B<sub>4</sub> + 3 ml de solvant
- C<sub>3</sub> ----- 0,5 ml de B<sub>4</sub> + 3,5 ml de solvant
- C<sub>4</sub> ----- 0,5 ml de B<sub>4</sub> + 7,5 ml de solvant

#### Série D :

- D<sub>1</sub> ----- 4 ml de C<sub>4</sub> + 2 ml de solvant
- D<sub>2</sub> ----- 4 ml de D<sub>1</sub> + 4 ml de solvant
- D<sub>3</sub> ----- 4 ml de D<sub>2</sub> + 4 ml de solvant
- D<sub>4</sub> ----- 4 ml de D<sub>3</sub> + 4 ml de solvant

### Préparation des boîtes de gelose :

- Faire fondre autant de culots de 18 ml de gelose Sabouraud ou de gelose Soja qu'il existe de dilutions d'antibiotiques (en commençant par la plus grande dilution).
- Pour la boîte témoin on mélange les 18 ml de milieu de culture avec 2 ml de solvant sans antibiotiques.
- Bien agiter puis couler en boîtes de pétri.
- Faire sécher les geloses à l'étuve avant ensemencement.

### **5.1.6. Suspension et inoculum :**

Nous avons utilisé la gelose Sabouraud liquide pour *Candida albicans* et la gelose soja liquide pour *Escherichia coli*.

Nous avons utilisé une suspension des germes tests à la concentration finale de  $10^6$  cellules/ml.

Cette suspension est obtenue par suspension d'une colonie du germe test d'une culture jeune de 18-24 heures dans 0,5 ml d'eau physiologique. Faire ensuite une dilution au centième (1/100).

La concentration finale pour l'inoculum est de  $10^5$  cellules par millilitre ( $10^5$  cellules/ml).

Cette concentration est obtenue par dilution de 4 à 5 gouttes de la suspension préalablement préparée (dilution au 1 ème) dans 10 ml du milieu de culture approprié.

100

L'inoculum est préparé tout juste avant le test et maintenu dans un bain marie à 40° C.

Le choix de la température de 40° C n'est pas fortuit, c'est une température qui entretient la vie aussi bien des levures que de *E. coli*.

Les levures peuvent se multiplier dans une échelle de température située entre 20-40° C. Quant à *E. coli* c'est un germe qui peut supporter les températures allant de 40 à 45° C.

### **5.1.7. Préparation des plaques CCM :**

Les solutions correspondent aux concentrations de 10, 30 et 60 mg/ml pour les extraits végétaux et 10 mg/ml pour le témoin. Les dépôts ont été de 10ul pour chacune des concentrations.

Les plaques CCM ont été développées dans les systèmes de solvants :

Chloroforme-méthanol-eau (90 : 15 : 5)

Chloroforme-méthanol (65 : 35)

La séparation des constituants est nette avec le système chloroforme-méthanol (65 : 35). Chaque plaque en verre a été développée en même temps qu'une autre en aluminium.

La plaque en verre est visualisée à l'UV en même temps que celle en aluminium, l'objectif est de faciliter la correspondance des Rf qui seront mesurés sur la plaque en aluminium. Laisser les plaques à la température du laboratoire avant le test, elles sont séchées pour éliminer toutes les traces de solvant.

Les plaques témoins sont révélées au réactif de Godin qui est un mélange de trois solutions A-B et C. La révélation se fait par pulvérisations successives, en un premier temps on pulvérise la plaque avec le mélange A + B en quantité égale et en un deuxième temps avec la solution C, chauffer la plaque pendant 5 minutes.

La révélation pour toutes les chromatographies a été faite à l'UV à 254 nm puis à 366 nm.

## **5.2. Test molluscicide :**

### **5.2.1. Matériel de collecte :**

Il se compose de :

- Bacs
- Filet à manches ou passoire
- Gants
- Pincés

### **5.2.2. Technique de la collecte :**

Pour la capture de mollusque nous avons utilisé le filet à manches. Avec les mains protégées de gants, nous avons soigneusement pris les mollusques. Nous nous sommes servis de pincés pour prendre les mollusques un à un du filet pour les mettre dans des bacs en plastique transparents contenant de l'eau de marigot.

### **Emplacement du gîte :**

Le gîte dans lequel la capture des mollusques a été effectuée se trouve à Nyomidjirambougou le marigot s'appelle le Farako. Le gîte fait face au Centre Sanitaire CESAME J. P. COUDRAY A.M.A.M.M.

Les échantillonnages ont été effectués à deux niveaux :

**1<sup>er</sup> niveau** : en amont du pont qui lie Nyomidjirambougou au Centre sanitaire CESAME. Ce gîte s'étend sur une quinzaine de mètres.

**2<sup>ème</sup> niveau** : en aval du même pont le gîte s'étend sur une trentaine de mètres.

**5.2.3. Elevage au laboratoire** : Une fois au laboratoire les mollusques sont nettoyés avec l'eau de puits après avoir versé l'eau de marigot utilisée pendant la collecte. Après les deux espèces de mollusques *Bulinus truncatus* et *Biomphalaria pfeifferi* sont séparées les unes des autres. Chaque espèce est gardée dans un bac en plastique large contenant de l'eau de puits. Les bacs ont été gardés à la température ambiante du laboratoire pendant toute la période des tests. Les mollusques ont été nourris avec des pieds de laitues. Nous avons chaque jour renouvelé l'eau dans laquelle les mollusques baignent.

### **5.2.4. Détermination de l'activité molluscicide :**

#### **5.2.4.1. Matériel :**

- . Bain-marie
- . Balance analytique de précision (type Sartorius A 200 S)
- . Bêchers
- . Bocaux
- . Compresses
- . Elastiques
- . Flacons
- . Lames
- . Pincettes

#### **5.2.4.2. Préparation des solutions à tester :**

Les solutions utilisées pour le test sont préparées en faisant dissoudre l'extrait dans l'eau distillée.

Les solutions à tester avaient une concentration de départ 400 mg/l soit 400 ppm. En fonction des résultats obtenus (taux de mortalité) ces solutions ont été diluées de moitié pour obtenir 200 ppm, 100 ppm.

#### **- Technique du test :**

La technique utilisée est celle recommandée par l'OMS (Sangaré, 2000). Dans cette technique cinq mollusques de même espèce et de taille uniforme sont placés dans 50 ml de la solution à tester. Chaque expérience est répétée 5 fois puis nous avons fait la moyenne du nombre de morts trouvés à chaque expérience. Cette moyenne est considérée comme le taux de mortalité. Les mollusques sont régulièrement surveillés afin qu'ils puissent rester dans la solution.

Le bécher est fermé avec une compresse immobilisée par un plastique. Pour le témoin nous avons utilisé l'eau distillée simple à la place de la solution à tester. Le temps d'exposition est de 24 heures suivi d'une reprise d'une heure dans l'eau distillée. La mort est reconnue par la décoloration de la coquille, l'immobilisation du mollusque l'observation est faite à la loupe binoculaire. Après chaque test les mollusques de la solution à tester et ceux du témoin sont éliminés.

Nous avons utilisé deux espèces de mollusques adultes à savoir *Bulinus truncatus* et *Biomphalaria pfeifferi*. La concentration de départ pour les tests a été de 400 ppm (40 mg/100 ml). Les extraits étaient dilués de moitié à chaque série de test (départ 400 ppm, puis 200 ppm et enfin 100 ppm). A chacune de ces concentrations nous avons compté le nombre de morts.

#### **5.2.4.3. Identification des espèces impliquées dans la transmission de la bilharziose au Mali :**

Ce sont :

##### ***- Bulinus truncatus :***

La coquille est ovulaire chez l'adulte, mais sa columelle n'est pas tronquée, sa hauteur est généralement d'environ 10 mm.

##### ***- Bulinus globosus :***

Il a la coquille globuleuse, une columelle tronquée, il peut atteindre 14 à 22 mm de haut. Ces deux espèces hébergent les formes larvaires de *S. hæmatobium* au Mali.

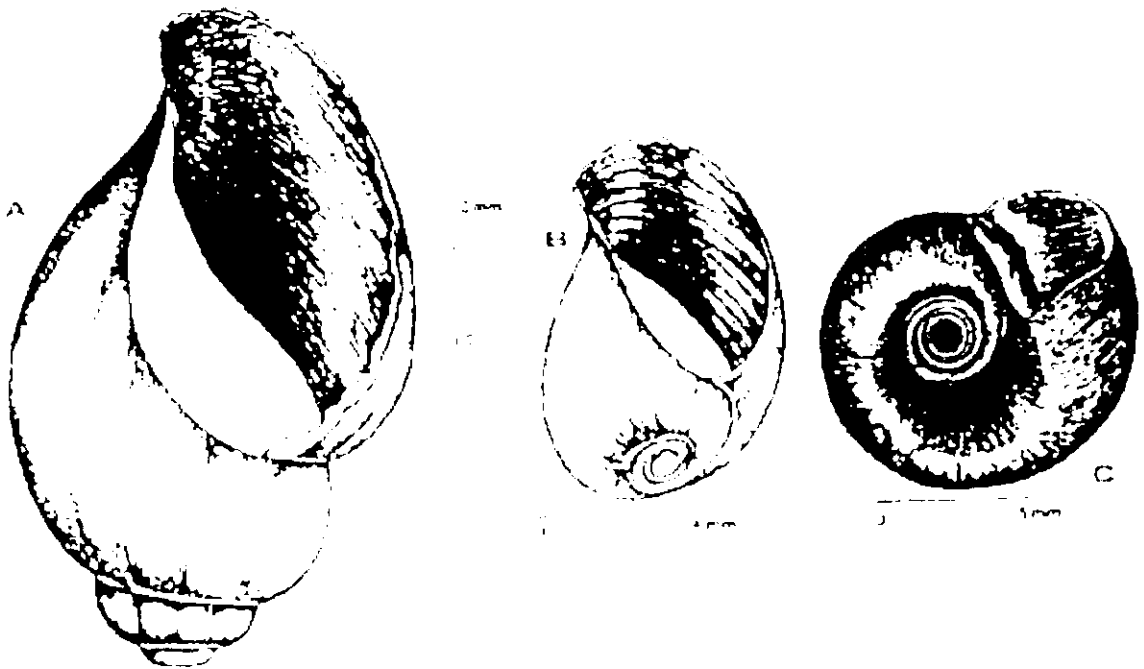
##### ***- Biomphalaria pfeifferi :***

Cette espèce a plus de 2 mm de haut. la coquille discoïde présente 4 à 5 tours de spires. C'est le seul vecteur de *S. mansoni* connu en Afrique Occidentale.

Les principales espèces de mollusques impliquées dans la transmission de la Schistosomiase en Afrique de l'Ouest.

- A. *Bulinus globosus* (Hôte intermédiaire de *Schistosoma hæmatobium*)
- B. *Bulinus truncatus* (Hôte intermédiaire de *Schistosoma hæmatobium*)
- C. *Biomphalaria pfeifferi* (Hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*)

Figure 3



Le gîte des genres *Bulinus* et planorbe se trouvent toujours dans les eaux douces peu profondes stagnantes ou à faible courant.

Comme conditions naturelles favorables ces mollusques préfèrent une forte luminosité, une abondante flore aquatique qui leur sert de support et de nourriture. La température de l'eau doit être comprise entre 25 et 30° C et le pH de l'eau doit se situer entre 5 et 9 (Sangaré, 2000).

### **5.3. Test antioxydant : Dépistage de l'activité antioxydante par le DPPH**

Le test chimique employé pour détecter la présence de composés antioxydants dans les extraits de plantes utilise une technique mise au point par Takao *et al* (1994).

La détection de l'activité antioxydante est basée sur le principe de la capture des radicaux libres fournis par le 1-1 diphenyl-2-picrylhydrazyle (DPPH).

Au cours du screening général 10  $\mu$ l de chaque extrait brut ont été déposés sur plaque de silicagel 60 F<sub>254</sub> possédant un support aluminium.

Le développement des plaques a été fait selon le système de solvant chloroforme-méthanol (65 : 35). Les chromatogrammes sur couches minces ont été séchés à l'aide d'un séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution 1-1 diphenyl-2-Picrylhydrazyl à la concentration de 2 mg/ml dans le méthanol.

En présence de composés possédant des propriétés antioxydantes le DPPH sera réduit en passant du pourpre au jaune. Sur plaque CCM les zones d'activités antiradicalaires apparaissent jaune-blanc sur fond violet après un temps optimale de 30 minutes (Cuendet *et al.*, 1997).

# **C H A P I T R E I V : R E S U L T A T S**

- 1) PLANTES UTILISEES DANS LE TRAITEMENT DES MST
- 2) RESULTATS DES ETUDES PHYTOCHIMIQUES
- 3) RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES

Tableau n° 1

## Plantes utilisées dans le traitement des MST.

Famille	Noms scientifiques et vernaculaire bambara	Partie utilisée et forme d'utilisation	Références
Anacardiaceae	<i>Lannea acida</i> (Rich) (Npékuba)	Décoction des feuilles	(11), (7), (18) (19), (4), (8)
	<i>Lannea microcarpa</i> (Engl) (Npékugwelè)	Macérées des racines	(11), (7), (18), (19)
Annonaceae	<i>Annona senegalensis</i> (Pers) (Mandé sunsu)	Macérés des feuilles et écorces du tronc	(1 à 19)
Caesalpiaceae	<i>Cassia occidentalis</i> (Linn) (Baran – Baran)	Décoction des feuilles	(3), (8)
	<i>Cassia sieberiana</i> (DC) (Sindjan)	Décoction des racines	(18), (14) (6)
	<i>Detarium microcarpum</i> (Guil et Perr) (N'tabacoumba)	Décoction des racines	(18), (14) (4)
Caricaceae	<i>Carica papaya</i> (Linn) (Mandjé)	Feuilles fraîches en application locale	(4), (2) (5)
Combretaceae	<i>Combretum micranthum</i> (G. Don) (N'golobè)	Décoction des feuilles et racines	(19), (10) (13), (1)
	<i>Guiera senegalensis</i> (Gmel) (N'goundjè)	Décoction des feuilles et racines	(1 à 19)
	<i>Terminalia albida</i> (Sc. Ellor) (Wolodjè)	Ecorce du tronc	(2), (4) (10), (11)
	<i>Combretum molle</i> (R. Br ex G. Don) (Gagnaka)	Décoction des feuilles	(9), (15) (16), (8)
Ebenaceae	<i>Diospiros mespiliformis</i> (Hochst) (Sunsu)	Ecorce du tronc	(8), (10), (13)
Euphorbiaceae	<i>Alchornea cordifolia</i> (Muell) (Korogwognè)	Décoction ou macérée de feuilles et écorce du tronc	(17)
	<i>Securinega virosa</i> (Baill) (N'golondjè)	Décoction des racines	(3)
Loranthaceae	<i>Tapinanthus</i> (Spp) (Ladon)	Décoction et macération des feuilles + rameaux	(1 à 19)
Meliaceae	<i>Trichilia emetica</i> (Forsk Chiov) (Flacizan)	Ecorces bouillies	(9), (7)
Mimosaceae	<i>Parkia biglobosa</i> (Benth) (Néré)	Décoction des racines et écorces	(1), (4) (5), (8)
	<i>Prosopis africana</i> (Guill. Perrot et Rich, Taub) (Guélé)	Décoction des feuilles et écorces	(14), (13) (16)
Oleaceae	<i>Ximenia americana</i> (Linn) (N'tonkè)	Décoction des feuilles et écorces du tronc et des racines	(1 à 19)
Rhamnaceae	<i>Ziziphus mauritiana</i> (Lam) (Suruku tomomon)	Décoction des racines	(2), (4), (5) (8), (11) (12), (15)
Rubiaceae	<i>Nauclea latifolia</i> (Sm) (Baro)	Ecorce du tronc et des racines	(1), (3), (6) (7), (13)
Sapotaceae	<i>Butirospermum paradoxum</i> (Gaertn. F) Hepper (S)	Ecorce superficielles	(18), (15) (8), (3)

Nous avons pu avoir des renseignements sur 21 plantes utilisées couramment dans le traitement des maladies sexuellement transmissibles (MST) par entretien. Ces plantes sont réparties entre quatorze familles. Seule la famille des *Combretaceae* a quatre représentantes.

Les modes d'utilisation dominantes de ces plantes sont les décoctés et les macérés. Cependant il existe selon la nature de l'affection d'autres formes d'application (feuilles fraîches écrasées en application locale ou les bouillies) ou bien les usages médico-magiques. Concernant ce dernier usage les plus grandes informations ont été recueillies à travers la revue de la littérature.

Voici décrites quelques recettes qui découlent de l'enquête.

**Recette 1 :**

Faire une décoction des racines de *Guiera senegalensis* et des racines de *Trichilia emetica*. Cette décoction doit être prise en boisson matin et soir. A chaque prise boire au moins deux louches soit un demi litre de la décoction. Cette décoction est un remède de la syphilis (réf 17).

**Recette 2 :**

Faire une décoction des racines de *Ximenia americana* et des racines de *Ziziphus mauritiana*. Boire à suffisance cette décoction c'est-à-dire au moins 4 à 5 fois par jour. La quantité à boire à chaque prise vaut ¼ de litre. Dans certains cas on peut associer à la décoction des racines des deux plantes du jus de tamarin. La décoction est un remède de la blennorragie (réf. 9)

**Recette 3 :**

Faire une décoction des écorces de *Butyrospermum paradoxum* (karité). Piler ensuite un morceau de vieux canaris (N'tèkèné).

Ajouter la mesure d'une coque d'arachide bien remplie de la poudre de canaris à une quantité de la décoction initialement préparée d'écorces de karité équivalente à ¼ de litre. Boire ce mélange le matin de bonne heure. Cette préparation est un remède de la bilharziose et même de la chaude-pisse non évolutive. Quant il s'agit d'une chaude pissé compliquée avec écoulement de pus adjoindre une décoction de *tapinanthus* du karité au traitement utilisé initialement contre la bilharziose (réf. 18).

**Recette 4** : Décoction de *Combretum micranthum*

C'est est une recette populaire au Mali, partout où la plante existe elle a des usages courants parmi lesquels le traitement des maladies vénériennes. Toutes les 19 personnes enquêtées ont fait cas de l'usage de *Combretum micranthum* dans le traitement des maladies vénériennes. Le vrai quinquéliba, *Combretum micranthum* est employé par les guérisseurs de Naréna (Mali) dans le traitement des affections urinaires et vénériennes sous forme de décoction des feuilles plus des citrons coupés en rondelles triturées. Ce remède est pris à la place de l'eau durant le traitement. Souvent dans certaines localités le citron est remplacé par du tamarin.

**Remarque** : La majeure partie des personnes enquêtées préconise dans le traitement traditionnel des MST, des plantes qui augmentent la diurèse. Selon elles lorsque l'on est en traitement le fait d'uriner beaucoup est un bon signe, cela facilitera l'élimination rapide des microbes.

## 2. ETUDES PHYTOCHIMIQUES :

### 2.1. Dosage de l'eau :

#### 2.1.1. Méthode gravimétrique :

**Tableau 2 : Teneur en eau de la poudre feuilles + rameaux du gui n° 1 (G<sub>1</sub>)**

N°	Tare (g)	MT avant étuve (g)	MT après étuve (g)	Masse drogue essai (g)	Masse eau (g)	% en eau
1	13,3061	15,2131	15,0753	1,9070	0,1378	7,22
2	14,1085	15,9491	15,8173	1,8406	0,1318	7,16
3	13,2563	15,3603	15,2151	2,1040	0,1452	6,89
4	12,6323	14,7383	14,5943	2,1060	0,1440	6,83
5	13,1851	15,3511	15,1944	2,1660	0,1567	7,23

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{7,22 + 7,16 + 6,89 + 6,83 + 7,23}{5} = 7,06 \%$$

**Tableau 3 : Teneur en eau de la poudre feuilles + rameaux du gui n° 2 (G<sub>2</sub>)**

N°	Tare (g)	MT avant étuve (g)	MT après étuve (g)	Masse drogue essai (g)	Masse eau (g)	% en eau
1	13,3061	15,0343	14,9033	1,7282	0,1310	7,58
2	14,1083	15,9443	15,8074	1,8360	0,1369	7,45
3	13,2561	15,4423	15,2807	2,1862	0,1616	7,39
4	13,1863	14,7097	14,6031	1,5234	0,1066	6,99
5	12,6323	14,4091	14,2883	1,7768	0,1208	6,79

$$\text{Teneur moyenne en eau} = \frac{7,58 + 7,45 + 7,39 + 6,99 + 6,79}{5} = 7,24 \%$$

#### 2.1.2. Méthode azéotropique :

$$\begin{aligned} V_t &= \text{volume total} \\ V_0 &= \text{volume initial} \\ PE &= \text{Prise d'essai} \end{aligned} \quad \% \text{ eau} = \frac{(V_t - V_0) \times 100}{PE}$$

$$\begin{aligned} G_1 \quad & \begin{aligned} V_t &= 1,22 \\ V_0 &= 0,85 \\ PE &= 5g \end{aligned} \quad \% \text{ eau} = \frac{(V_t - V_0) \times 100}{PE} = \frac{(1,22 - 0,85)}{5} \times 100 = 7,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} G_2 \quad & \begin{aligned} V_t &= 1,30 \\ V_0 &= 0,90 \\ PE &= 5g \end{aligned} \quad \% \text{ eau} = \frac{(1,3 - 0,9)}{5} \times 100 = 8 \end{aligned}$$

## 2.2. Substances extractibles par l'eau :

Poids capsule vide =  $PC_v$

Poids capsule après évaporation à sec =  $PC_e$

$(PC_e - PC_v) \times 100 = \% \text{ Substances extractibles par l'eau}$

G<sub>1</sub> |  $PC_v = 69,8517 \text{ g}$   
|  $PC_e = 70,0553 \text{ g}$   
|  $(PC_e - PC_v) \times 100 = (70,0553 - 69,8517) \times 100 = 20,36 \%$

G<sub>2</sub> |  $PC_v = 69,8443 \text{ g}$   
|  $PC_e = 70,1027 \text{ g}$   
|  $(PC_e - PC_v) \times 100 = (70,1027 - 69,8443) \times 100 = 25,84 \%$

## 2.3. Dosage des cendres :

### 2.3.1. Cendres totales :

**Tableau 4 : Teneur en cendres totales de la poudre feuilles + rameaux du gui n° 1 (G<sub>1</sub>).**

N°	Tare (g)	MT avant calcination (g)	MT après calcination (g)	Masse drogue essai (g)	Masse cendres (g)	% en cendres
1	29,5457	31,3104	29,6621	1,7647	0,1164	6,59
2	24,1893	25,8993	24,3063	1,7100	0,1170	6,84
3	16,9115	18,8533	17,0423	1,9418	0,1308	6,73
4	17,5674	19,5337	17,6973	1,9663	0,1299	6,60
5	17,1833	19,1883	17,3137	2,0050	0,1304	6,50

$$\text{Teneur moyenne en cendres totales} = \frac{6,59 + 6,84 + 6,73 + 6,60 + 6,50}{5} = 6,65 \%$$

**Tableau 5 : Teneur en cendres totales de la poudre feuilles + rameaux du gui n° 2 (G<sub>2</sub>).**

N°	Tare (g)	MT avant calcination (g)	MT après calcination (g)	Masse drogue essai (g)	Masse cendres (g)	% en cendres
1	29,5453	31,1747	29,6381	1,6294	0,0928	5,69
2	24,1867	25,5853	24,2801	1,3986	0,0934	6,67
3	17,1813	19,1831	17,3053	2,0018	0,1240	6,19
4	17,5653	19,2323	17,6687	1,6670	0,1034	6,20
5	16,9093	18,4951	17,0071	1,5858	0,0978	6,16

$$\text{Teneur moyenne en cendres totales} = \frac{5,69 + 6,67 + 6,19 + 6,20 + 6,16}{5} = 6,18 \%$$

**2.3.2. Dosage des cendres sulfuriques et des cendres chlorhydriques de la poudre des feuilles + rameaux de G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>.**

**Tableau 6 : Pourcentage des cendres sulfuriques et des cendres chlorhydriques de la poudre des feuilles + rameaux de G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>.**

	% en cendres sulfuriques	% en cendres chlorhydriques
G <sub>1</sub>	8,20	4,79
G <sub>2</sub>	9,37	6,61

**2.4. Réactions en tube :**

**Tableau 7 :**

**C A R A C T E R I S A T I O N D E G<sub>1</sub>**

RECHERCHES	RESULTATS
Hétérosides cyanogénétiques (papier picrosodé)	Négatif
Substances extractibles par l'eau 1 gramme	20,63%
Coumarines (Fluorescence U.V. 366 nm)	Négatif
Caroténoïdes (Carr et Price)	Négatif
Antracénosides libres (Borntrager)	Négatif
Antracénosides combinés C-Hétérosides	Négatif
Antracénosides combinés O-Hétérosides (Borntrager)	Négatif
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	x x Flavones
Flavonoïdes : Hétérosides flavoniques (Shibata)	Négatif
Alcaloïdes : Base (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	Négatif
Alcaloïdes : Sel (Bouchardad-Mayer-Drageendorff)	Négatif
Saponosides : Mousse	Négatif
Tanins : Réaction avec FeCl <sub>3</sub>	x x x x
Tanins : Réaction avec HCl	x x x
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	x x x
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	x x x x
Composés réducteurs	x x x x
Oses et holosides	x x x x
Polyuronides (mucilages)	x x
Stérols et triterpènes : Hétérosides triterpéniques (Lieberman)	x x
Stérols et triterpènes : Stéroïdes (Lieberman)	x x
Hétérosides cardiotoniques (Raymaond-Marthoud)	x x
Hétérosides cardiotoniques (Keede)	x x
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	x x
Pourcentage Eau (Méthode pondérale)	7,06%
Pourcentage cendres totales	6,65%
Anthocyanes	Négatif
Leucoanthocyanes	x x x x
Différentiation quinones	Négatif
Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	-
Pourcentage eau par entraînement azéotropique	7,40%
Pourcentage cendres chlorhydriques (HCL 10%)	4,79%
Pourcentage cendres sulfuriques H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50%	8,20%

**Tableau 8 :****C A R A C T E R I S A T I O N D E G<sub>2</sub>**

<b>RECHERCHES</b>	<b>RESULTATS</b>
Hétérosides cyanogénétiques (papier picrosodé)	Négatif
Substances extractibles par l'eau 1 gramme	25,84%
Coumarines (Fluorescence U.V. 366 nm)	Négatif
Caroténoïdes (Carr et Price)	Négatif
Antracénosides libres (Borntrager)	Négatif
Antracénosides combinés C-Hétérosides	Négatif
Antracénosides combinés O-Hétérosides (Borntrager)	Négatif
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	x x x Flavones
Flavonoïdes : Hétérosides flavoniques (Shibata)	x x x Flavones
Alcaloïdes : Base (Bouchardad-Mayer-Dragendorff)	Négatif
Alcaloïdes : Sel (Bouchardad-Mayer-Dragendorff)	Négatif
Saponosides : Mousse	Négatif
Tanins : Réaction avec FeCl <sub>3</sub>	x x x x
Tanins : Réaction avec HCl	x x x x
Tanins catéchiques : Réaction de Stiasny	x x x x
Tanins galliques : Réaction de Stiasny	x x x x
Composés réducteurs	x x
Oses et holosides	x x x x
Polyuronides (mucilages)	x x x x
Stérols et triterpènes : Hétérosides triterpéniques (Lieberman)	x x x x
Stérols et triterpènes : Stéroïdes (Lieberman)	x x
Hétérosides cardiotoniques (Raymond-Marthoud)	x x x
Hétérosides cardiotoniques (Keede)	x x x x
Hétérosides cardiotoniques (Baljet)	x x x x
Pourcentage Eau (Méthode pondérale)	7,24%
Pourcentage cendres totales	6,18%
Anthocyanes	Négatif
Leucoanthocyanes	x x x x
Différentiation quinones	Négatif
Alcaloïdes des solanacées mydriatiques	-
Pourcentage eau par entraînement azéotropique	8%
Pourcentage cendres chlorhydriques (HCL 10%)	6,61%
Pourcentage cendres sulfuriques H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50%	9,34%

Les réactions en tubes ont abouti à la mise en évidence de huit composés chimiques que l'on retrouve dans le tableau récapitulatif de présence de substances chimiques. C'est pour associer à ces substances chimiques les teneurs de certaines substances dosées dans la poudre des feuilles plus rameaux des échantillons de G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>.

**Récapitulatif :****Tableau 9** : Présence des substances chimiques.

SUBSTANCES CHIMIQUES		G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
Flavonoïdes	Génines flavoniques	x x	x x
	Hétérosides flavoniques	x x	x x x
Tanins	Réactions avec FeCl <sub>3</sub>	x x x x	x x x x
	Réaction avec HCl	x x x x	x x x x
	Tanins catéchiques	x x x x	x x x x
	Tanins galliques	x x x x	x x x x
Hétérosides cardiotoniques	Cardiotoniques Raymond-Marthoud	x x	x x x
	Keedes	x x	x x x x
	Baljet	x x	x x x x
Stérols et triterpènes	Réaction de Libermann Buchard	x x	x x x x
	Caroténoïdes	x x	x x
	Composés réducteurs	x x x x	x x
Oses et holosides		x x x x	x x x x
Mucilages		x x x x	x x x x
Leucoanthocyanes		x x x x	x x x x

**Tableau 10** : Récapitulatif des dosages de l'eau, des substances extractibles par l'eau, des cendres insolubles dans HCl à 10% des cendres sulfuriques et des cendres totales.

	TENEUR EN EAU		Teneur en substances extractibles par l'eau	Teneur en cendres insolubles dans HCL 10%	Teneur en cendres sulfuriques	Teneur en cendres Totales
	M. azéotropique	M. Gravimétrique				
G <sub>1</sub>	7,40%	7,06%	20,36%	4,79%	8,20%	6,65%
G <sub>2</sub>	8%	7,24%	25,84%	6,61%	9,37%	6,18%

### 3. RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES :

#### 3.1. Tests molluscicides :

**Tableau 11 : Taux de mortalité des mollusques aux extraits de gui à la concentration de 400 ppm.**

Extraits	Concentration	Nombre de mollusques		Résultats nombre de morts par test					Taux de morts	
		Test	Témoin	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>		
G <sub>2</sub> d	400 ppm	5 x 5	5 x 5	Bt = 5	1	4	5	5	80%	
				Bp = 5	5	4	5	3		88%
				T = 0	0	0	0	0		0%
G <sub>1</sub> EtOH	400 ppm	5 x 5	5 x 5	Bt = 5	4	4	5	4	88%	
				Bp = 5	5	5	4	5		95%
				T = 0	0	0	0	0		0%
G <sub>1</sub> d	400 ppm	5 x 5	5 x 5	Bt = 0	0	0	0	0	0%	
				Bp = 1	0	1	0	0		8%
				T = 0	0	0	0	0		0%

G<sub>2</sub>EtOH : Extrait éthanolique du gui n° 1

G<sub>2</sub>EtOH : Extrait éthanolique du gui n° 2

G<sub>1</sub>d : Décocté du gui n° 1

G<sub>2</sub>d : Décocté du gui n° 2

Bt : *Bulinus truncatus*

Bp : *Biomphalaria pfefferi*

T = Témoin pour le test

(T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub>) = numéro des tests.

A 400 ppm le test avec G<sub>2</sub>EtOH a été négatif. Aucun mort n'a été constaté sur les deux espèces (Bt et Bp) lors ce test.

**Tableau 12** : Taux de mortalité aux différents tests à la concentration de 200 ppm.

Extraits	Concentration	Nombre de mollusques		Résultats nombre de morts par test					Taux de morts
		Test	Témoin	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	
G <sub>1</sub> EtOH	200 ppm	5	5	Bt = 1 Bp = 3 T = 0	3 3 0	2 1 0	2 4 0	2 2 0	40% 52% 0%
G <sub>2</sub> d	200 ppm	5	5	Bt = 0 Bp = 0 T = 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0% 0% 0%

Le test avec la concentration de 100 ppm a été négatif pour toutes les deux espèces de mollusques. A 200 ppm seul G<sub>1</sub>EtOH a présenté une certaine activité avec un taux de mortalité compris entre 40 et 52% pour les deux espèces de mollusques.

**Tableau 13** : RECAPITULATIF

Extraits	Concentration	Taux de morts
G <sub>1</sub> EtOH	400 ppm	Bt = 88% Bp = 95%
	200 pm	Bt = 40% Bp = 52%
G <sub>2</sub> d	400 ppm	Bt = 80% Bp = 88%

Nous avons constaté au bout de 24 heures aucun de nos extraits n'a donné un taux de mortalité de 100%.

### 3.2. Tests antioxydant et antifongique :

**Tableau n° 14** : Activité des extraits de gui au DPPH et activité antifongique de G<sub>1</sub> par la méthode Biographique.

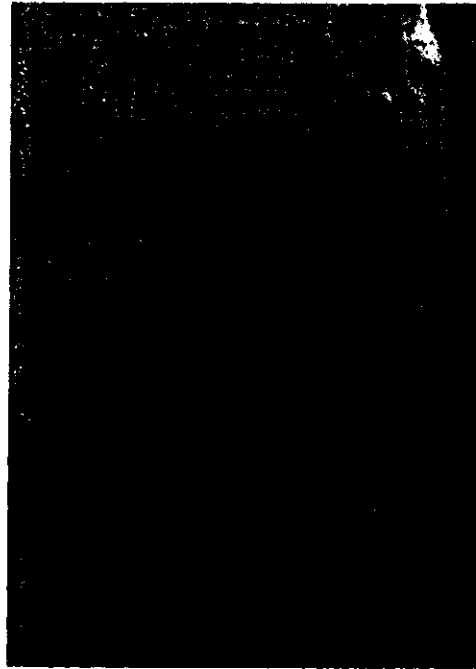
Nature de l'extrait	ACTIVITE	
	Test antioxydant (10 mg/ml)	Test antifongique (60mg/ml)
G <sub>1</sub> EtOH	x x x	x
G <sub>2</sub> EtOH	x x x x	-
G <sub>1</sub> d	x x	-
G <sub>1</sub> d	x x x	-

Nous constatons que tous les extraits de gui ont manifesté une activité anti oxydante à 10 mg/ml. Pour l'activité antifongique seule l'extrait G<sub>1</sub>EtOH a été actif à 60 mg/ml avec une zone d'inhibition correspondant au Rf = 0,1.

**N.B** : Le test de l'activité antibactérienne sur *E. Coli* a été négatif pour tous les extraits de gui aux concentrations variant entre 10 et 60 mg/ml.

**Matérialisation de l'activité antifongique de G<sub>1</sub> par la méthode Bioautographique.**

CHCl<sub>3</sub>: MeOH: 65:35



G<sub>1</sub> G<sub>2</sub>

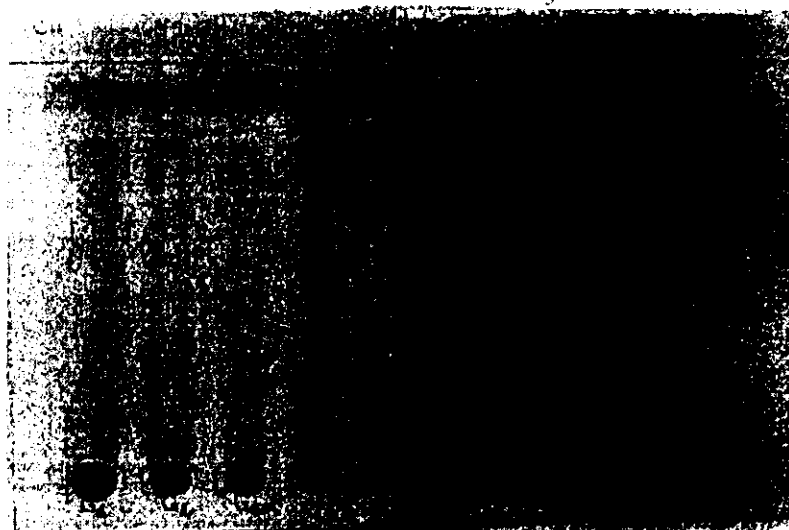
**Figure 4**

**Comportement des extraits de gui au DPPH**

**Figure 5**

CHCl<sub>3</sub>: MeOH: 65:35

CHCl<sub>3</sub>: MeOH: 65:35



G<sub>1</sub> G<sub>2</sub> G<sub>1d</sub> G<sub>2d</sub> G<sub>1</sub> G<sub>2</sub> G<sub>1d</sub> G<sub>2d</sub>

**Tableau 11 : Mesure des Rf au test antioxydant (DPPH)**

NATURE DE L'EXTRAIT	Rf. dans le système de solvant CHCl <sub>3</sub> : MeOH
G <sub>1</sub> EtOH	0,0625 ; 0,1000 ; 0,3250 0,06750 ; 0,8125
G <sub>2</sub> EtOH	0,0500 ; 0,0875 ; 0,1375 0,3375 ; 0,4875 ; 0,6750 0,8125 ; 0,8375 ; 0,9125
G <sub>1</sub> d	0,0500 ; 0,0875
G <sub>2</sub> d	0,2625 ; 0,3375 ; 0,5250 0,6375 ; 0,7125

La mesure des Rf montre que G<sub>2</sub> EtOH a présenté le plus de composés au Godin suivi de G<sub>1</sub>EtOH et G<sub>2</sub>d et enfin G<sub>1</sub>d.

**Tableau 12 : Rf et coloration des constituants après révélation au Godin.**

EXTRAIT G <sub>1</sub> EtOH											
Rf.	0,0886	0,1392	0,2025	0,3846	0,4177	0,4810	0,5443	0,6202	0,7594	0,8227	0
Coloration	Rose	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Rose	Rouge

EXTRAIT G <sub>2</sub> EtOH										
Rf.	0,0886	0,2025	0,2531	0,4556	0,5443	0,6075	0,7341	0,7848	0,8227	
Coloration	Rose	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune	Rose	Rose	

	EXTRAIT G <sub>1</sub> d		EXTRAIT G <sub>2</sub> d				
Rf.	0,6582	0,7594	0	0,2784	0,5443	0,6455	0,7468
Coloration	Jaune-vert	Jaune-vert	Rose	Rose	Jaune-vert	Jaune-vert	Jaune-vert

Les colorations dominantes ont été la coloration jaune, la coloration jaune-vert et enfin la coloration rose-rouge. Ce qui suppose l'existence de flavonoïdes en l'occurrence les flavanols et les flavanones qui apparaissent colorés en jaune pour les premiers et en vert pour les deuxièmes après révélation au Godin.

## **COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :**

Notre étude qui a consisté en un screening de l'activité biologique de deux espèces de gui du karité (*Tapinanthus dodoneifolius* et *Tapinanthus pentagonia*) a abouti à des résultats pour l'interprétation desquels nous avons pris en compte les résultats des études antérieures.

Lors de la caractérisation du matériel végétal à partir des réactions en tube il est assorti que les deux espèces de *Tapinanthus* renferment les mêmes substances chimiques.

Les différentes substances chimiques rencontrées sont : **les flavonoïdes, les tanins, les hétérosides cardiotoniques, les stérols et triterpènes, les composés réducteurs, les oses et holosides, les mucilages et les leucoanthocyanes.**

Cependant à côté de cette existence de substances chimiques il est important de noter que les réactions de caractérisation ont été positivement plus marquées avec *Tapinanthus dodoneifolius* qu'avec *Tapinanthus pentagonia* pour la majeure partie des substances retrouvées.

Les réactions de dosage qui ont été effectuées sur la poudre des feuilles + rameaux ont concerné l'eau, les cendres sulfuriques, les cendres chlorhydriques, les cendres totales et les substances extractibles par l'eau.

Le pourcentage d'eau dans la poudre des feuilles + rameaux est compris entre 7,06% et 8%. Ces taux sont inférieurs à 10%, cela est conforme à la norme internationale qui exige pour une meilleure conservation des échantillons, une teneur en eau inférieure à 10%.

Les substances extractibles par l'eau correspondent à 20,36% pour G<sub>1</sub> et 25,84% pour G<sub>2</sub>. Nous constatons qu'1/5<sup>ème</sup> des substances de G<sub>1</sub> est extractible par l'eau contre près d'1/4 de G<sub>2</sub>.

Les teneurs en cendres insolubles dans HCl à 10% ont été de 4,79% pour G<sub>1</sub> et 6,61% pour G<sub>2</sub>. Ces teneurs sont en rapport avec la contamination des échantillons par le sable.

Les teneurs en cendres sulfuriques (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50%) ont été de 8,20% pour G<sub>1</sub> et 9,37% pour G<sub>2</sub>.

Quant à la teneur en cendres totales, elle a été de 6,65% pour G<sub>1</sub> et 6,18% pour G<sub>2</sub>. Nous pouvons conclure que G<sub>2</sub> contient à peu près autant d'éléments minéraux que G<sub>1</sub>.

S'agissant des tests biologiques, les extraits ont présenté des résultats positifs aux tests antifongique, molluscicide et antioxydante.

Pour l'activité antifongique, c'est l'extrait G<sub>1</sub>EtOH qui a été actif, il existe une zone d'inhibition à environ 1 cm du dépôt à partir de la ligne de départ correspondant au Rf = 0,1.

Aux tests molluscicides les extraits ayant eu une activité sont G<sub>1</sub>EtOH et G<sub>2</sub>d.

Avec G<sub>2</sub>d les taux de mortalité ont été de 88% pour l'espèce *Biomphalaria pfeifferi* et 80% pour *Bulinus truncatus* à la concentration de 400 ppm.

Par contre à 200 ppm l'extrait G<sub>2</sub>d n'a pas eu d'activité ni sur *Biomphalaria pfeifferi*, ni sur *Bulinus truncatus*.

Avec G<sub>1</sub> EtOH les taux de mortalité ont été de 88% pour *Bulinus truncatus* et 95% pour *Biomphalaria pfeifferi* à la concentration de 400 ppm.

A 200 ppm l'extrait G<sub>1</sub>EtOH a donné un résultat positif avec 52% de mortalité pour *Biomphalaria pfeifferi* et 40% de mortalité pour *Bulinus truncatus*.

Pour ce qui est de l'activité antioxydante tous les extraits de gui ont été actifs à la concentration de 10 mg/ml.

A l'analyse des résultats, pour l'activité molluscicide bien que nous n'avons pas pu avoir 100% de mortalité lors de nos tests il reste entendu qu'un taux de mortalité compris entre 80 et 95% à 400 ppm est considérable. L'espèce la plus sensible à nos tests a été *Biomphalaria pfeifferi* et l'extrait de gui le plus actif a été G<sub>1</sub>EtOH.

Sur *Biomphalaria pfeifferi* nous avons encore obtenu 52% de mortalité à 200 ppm avec l'extrait G<sub>1</sub>EtOH contre 95% de mortalité à 400 ppm.

Quant à l'activité antioxydante la plus grande activité est observée avec G<sub>2</sub>EtOH.

G<sub>1</sub>EtOH et G<sub>2</sub>d ont une activité comparable du point de vue intensité de réduction du DPPH, par contre G<sub>1</sub>d a l'activité la plus faible.

Partant de ces faits la mesure du Rf a donné neuf (9) valeurs pour G<sub>2</sub>EtOH contre cinq (5) valeurs pour G<sub>1</sub>EtOH et G<sub>2</sub>d enfin deux (2) valeurs pour G<sub>1</sub>d.

Nos résultats sont conformes à ceux des travaux antérieurs selon lesquels les composés polyphénoliques interviennent le plus dans l'activité antioxydante.

L'activité antiradicalaire des composés phénoliques a été démontrée par Potterat, (1997).

Les réactions de caractérisation effectuées sur G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> ont prouvé l'activité la plus marquée de G<sub>2</sub> au test antioxydant. G<sub>2</sub> a la plus grande richesse en flavonoïdes comme l'indique les résultats de l'analyse qualitative.

Les flavonoïdes représentent la classe de substance la plus étudiée dans la manifestation de l'activité antioxydante (Bors *et al*, 1990). Il existe pour autant d'autres classes de substances comme les tanins pour lesquels on a pu établir des propriétés antioxydantes. Les tanins agissent en capteurs de radicaux libres lipidiques produits lors de l'oxydation lipidique.

Les tanins manifestent d'autres propriétés notamment la propriété molluscicide. En effet, Schaufelberger et Hostettmann (1982) ont montré que lorsqu'un extrait brut de plante était débarrassé de ses tanins l'extrait ne montrerait plus aucune activité molluscicide ou du moins l'activité est nettement diminuée.

Les deux espèces de gui de notre étude sont tous riches en substances polyphénoliques notamment en tanin. Des expériences fragmentaires ont montré le rôle de certaines substances à structure polyphénolique notamment les flavonoïdes dans les phénomènes d'oxydo-réduction de fécondation de croissance etc. Les flavonoïdes en raison de leurs propriétés fongicides interviendraient contre les parasites des arbres (Paris R.R et Moyse.H, 1965).

Notons que certaines études ont concerné l'étude de l'activité antitumorale, de l'activité inhibitrice des enzymes virales des extraits de gui. Dans ces études il apparaît que les tanins interviennent dans l'inhibition de la reverse transcriptase (RT) (Kadiuchi *et al*, 1985).

Nous pouvons situer l'activité molluscicide dans le cadre de la toxicité bien que la toxicité peut être considérée comme modérée ici ; aucun des tests n'a atteint 100% de mort à la concentration test la plus élevée 400 ppm. Toutes les littératures font cas du fait que la valeur médico-magique accordée à chaque espèce, tient compte de sa plante hôte.

L'explication de cet état de fait ne peut se concevoir en oubliant l'aspect du parasitisme.

Le fait de retrouver des acides gras dans les feuilles de *Tapinanthus dodoneifolius* suppose que ces principes lipidiques ont été retirés de la plante hôte (*Butyrospermum paradoxum*) par parasitisme et accumulés par la suite au niveau du gui sans être métabolisés.

## **CONCLUSION** :

Notre étude qui est une contribution à l'étude de l'activité biologique des *Tapinanthus* et de leur composition chimique nous a permis de comprendre que le domaine des plantes demeure encore un domaine valable de recherche. Certaines des propriétés des guis notamment les propriétés antioxydantes et antiradicalaires sont recherchées dans l'industrie alimentaire de même que dans l'industrie pharmaceutique.

Dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments la découverte d'antioxydant d'origine naturelle pourrait constituer une alternative aux composés synthétiques (Butyl hydroxytoluène ou Butyl hydroxyanisole) utilisés actuellement dans ce but.

Dans l'industrie pharmaceutique sachant que les antioxydants sembleraient contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou les maladies cardiaques, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour.

Les investigations dans le genre *Tapinanthus* doivent être poussées à cause des résultats significatifs obtenus : qu'il s'agisse de l'activité antioxydante, antifongique ou molluscicide.

Dans les perspectives nous souhaiterions que soient faites des études pour mettre en valeur la propriété antifongique du gui (*Tapinanthus pentagonia*) en vue de la fabrication de médicaments qui puissent agir à différents stades de l'évolution des candidoses vulvo-vaginales.

Pour ce qui est l'activité molluscicide reconnue par nos tests nous suggérons que soient entreprises des études de toxicité sur les mollusques et sur la faune aquatique avec d'autres méthodes en tenant compte d'autres critères de toxicité.

Toujours dans l'investigation de l'activité biologique, nous suggérons des tests sur les bilharzies à cause du fait que celles-ci ont pour hôtes intermédiaires les mollusques d'une part, et en se référant aux enquêtes ethnobotaniques qui font voir l'utilisation des guis dans le traitement des MST d'autre part.

Nous ne pourrions terminer ce travail sans faire une adresse aux hommes pour la conservation de la nature.

Quelque part l'incidence climatique, entraînant des variations biologiques et saisonnières qui sont des contraintes que nous ne maîtrisons pas, il est souhaitable que nous profitons de ces variations pour valoriser des ressources locales reconnues ayant une valeur thérapeutique.

Le service de la nature restera toujours dans le cadre de l'utilitaire si l'on parvient à concilier les différentes approches scientifiques tout en y préservant le rapport bénéfice/risque pour les hommes.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :**

- Abreu P.M., E.S. Martins, O. Kayser, K.U Bindseil, K. Siems, A. Seeman and J. Frevert, (1999). Antimicrobial antitumor and Antileishmania screening of Medicinal Plants from Guinea-Bissau. *Phytomédecine* vol 6 (3) pp 187-195.
- Adjanohoun. E. J, ASSI. L ; Floret J. J., Guinko. S, Koumaré. M, Ahyi. A.M.R, Raynal. J (1981). Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques floristiques au Mali, ACCT.
- Adjanohoun, E, Cusset, G, Eyme, J., Le Bras, M., Lejoly, J., Richel, T. and Waechter, P. (1992) Banque de Données de Médecine Traditionnelle et Pharmacopée (Pharme 12) ACCT.
- Alexandra Paulo, Aido Duarte, Elsa T. Gomes (1994). In vitro antibacterial screening of *cryptolepis sanguinolenta* alkaloids. *Journal. Of Ethnopharmacology* vol 44 pp 127-130.
- Becker H. and J. Exner (1997) Flavonoïd Aglyka of Mistletoe Grown on Different Host Trees. *Proceeding of the Fifth Hungarian Bioflavonoïd Symposium-Amsterdam-Oxford-New York (1997)*, PP 225-289.
- Berhaut J. (1967). Flore du Sénégal 2<sup>ème</sup> édition. Editions Clair Afrique, Dakar pp 106-107.
- Bongoundou E G (1987). Monographie du Karité *Butyrospermum paradoxum* (Gaertn. f.) Hepper, espèce agroforestière à usages multiples. Institut de Recherche en Biologie et Ecologie Tropicale, Ouagadougou, Burkina Faso, 67 pages.
- Boussim J. (1988). Contribution à l'étude de la Biologie des Phanérogames parasites. Recherches sur les *Tapinanthus* (*Loranthacées*) du Karité. Séminaire national sur la valorisation du Karité pour le développement national.
- Boussim J. (1991). Contribution à l'étude des *Tapinanthus* parasites du karité au Burkina Faso. Thèse de 3<sup>ème</sup> Cycle, Université de Ouagadougou, 152 pages.
- Bouchet P., Guignard J. Madulo Le Blond, Regli P. (1989) Mycologie générale et médicale. Masson Paris 179 p.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales, 2<sup>ème</sup> Edition.

- Condamine M. (1988). Les *Tapinanthus* parasites du karité : Prospection au Mali et au Burkina Faso et premières observations Histo-cytologiques de la baie. D.E.A Biologie et physiologie végétales, Université Pierre et Marie Curie, Paris 43 p.
- Cook J A., Vander jagt DJ., Dasgupta A., Mounkaila G., Glew R S., Blackwell. W and Glew R H (1998). Use of the Trolax assay to estimate the antioxydant content of seventeen edible wild plants of Niger. Life sciences vol 63 (2) pp 105-110.
- Diallo B., Vanhaelen - Fastre R., Konoshima I., Kosuka M. And Okuda H. (1989). Studies on inhibitors of Skin-tumor promotion. Inhibition effects of triterpenes from *Cochlospermum tinctorium* on Epstein-Barr Virus activation. J. Nat. Prod. 879-881.
- Diarra L., Maïga D., Youbba Z. M., Diallo A. et Maïga I. (1999) : Analyse de la situation épidémiologique de l'infection à VIH/SIDA et des MST. Programme National de Lutte contre les MST/SIDA.
- Diarra B. (1989) Contribution à l'étude de l'activité inhibitrice *in vitro* de quelques essences médicinales du Mali sur *Candida albicans*. Thèse Pharmacie Bamako 70 p.
- Duncan J. (1987) The Biochemical and Physiological basis of the mode of action of molluscicid pp 27-40.
- Diniz, M. A, Silva, O., Paulo, M.A. and Gomes, E.T (1996) Medicinal uses of plants from Guinea-Bissau, in the Biodiversity of African Plants edited by L. J. G. Van der Maesen, pp 727-731, Luwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Finter N.B. (1969). Dye uptake methods for assessing cytopathologeneccity and their application to interferon assay. J. Gen Virol 5 : 419-427.
- Gopichandran, R/PETER, AJ/Subramanian, VR (1992). AGE. Correlated Biochemical Profiles of Thrips Galls in Relation to population, Density of Thrips. Journals of Natural History Vol 26 (3) pp 609-619.
- Ison, C., Pepin, J. Roope, N.S., Dembe, E., Secka, D. and Easmon, C.S.F (1992). The dominance of a multiresistant strain of *Neisseria gonorrhoeae* among prostitutes and TSD patients in the Gambia. Genitourin. Med. 68 : 356-360.
- Jackson G (1968). Notes on West African vegetation III. The seedling morphology of *Butyrospermum paradoxum* (Gaertn. F.) Hepper, J.W. Afr. Sci. Ass ; 13 ; 215-222.

- Jacquemin P., Jacquemin J L (1974) Parasitologie clinique Masson Paris 228 p
- Kerharo J., Adam G. (1974). Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle. Plantes Médicinales et Tropiques. Editions VIGOT FRERES 1011 P.
- Kanta F. B (2000). Etude de l'activité anticandidosique de certaines plantes médicinales maliennes sur *Candida albicans* - Thèse Pharmacie n° 13, Bamako 81 P
- Kushumoto, IT, Shimada. I, Kakiuchi N., Hattorim M., Namba T., Supriyatna S. (1992). Inhibitory Effects of Indonesian plant-extracts on reverse-transcriptase of an RNA-Tumor-Virus-1 Phytotherapy research vol 6 (5) pp. 241-244.
- Maïga A-Y (1989). Rapport de synthèse des trois missions de la phase de prolongation du projet «**Actions thématiques sur la mortalité du karité dans la région de Ségou**» I-N-R-Z-F-H, Sotuba, 50 P.
- Malgras D. (1992). Arbres et Arbustes Guérisseurs des Savanes Maliennes. Editions Karthala et ACCT, 478 P.
- Okuda, T. Yoshida, X-M Chen, J-X XI, and M. Fukushima (1987). Corianin from Coriaria japonica A. Gray, and Sesquiterpène. Lactones from *Loranthus parasiticus* MERR. Used for Treatment of schizophrenia. Chem-Pharm-Bull. 35 (1) 182-187.
- OFel, ANN (1982) Parasitologie mycologie C et R Paris 349 p.
- Otake. T., Mari, . H, Morimoto. M. and Ueba. N. (1995). Screening of Indonesian Plant Extracts for Anti-Human Immunodeficiency virus. Type 1 (HIV-1) Activity. Phytotherapy Research vol 9 PP 6-10.
- Paris R.R et Moyse. H. (1965). Matière Médicale Tome 1, Masson et C<sup>ie</sup> 416 P.
- Picasso G (1984). Synthèse des résultats acquis en matière de recherche sur le karité au Burkina Faso de 1950 à 1958, Rapport I-R-H-O 45 p.
- Rapport ACCT (1985). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali.
- Sallé G, J. Boussim, A. Raynal-Roques et F. Brunck (1991). Le Karité une richesse potentielle. Perspectives de recherche pour améliorer sa production. Bois et forêts des Tropiques (N° 228) PP12-15.

- Sallé G, Raynal A. et Tuquet C (1987). Field identification of some *Loranthaceae* parasiting *Butyrospermum* (Gaertn. F.) Hepper (*Sapotaceae*) in Mali and Burkina Faso. In parasitic flowering plants. Proc 4<sup>th</sup> ISPPF, Ed-H-Ch-Weber et W Forstreuter, 715-717.
- Sangaré S. (2000). Etude phytochimique et de l'activité molluscicide de *Entada africana*. Guill et Perr (*Mimosaceae*). Thèse Pharmacie n° 15, Bamako. 68 Pages.
- Sanogo R. G. Crissafi, M. P. Germano, R. De Pasquale and G. Bisognano (1998). Evaluation of Malian Traditional Medicines : Screening for Antimicrobial Activity. *Phytotherapy Research* vol 12 S154-S156.
- Sanou B. (1997) Etude de l'activité antifongique de cinq plantes médicinales maliennes sur *Candida albicans* - Thèse Pharmacie Bamako 70 p.
- Silva O., Barbosa S., Diniz A., VALdeira M..L. and Gomes E. (1997). Plant Extract antiviral Activity Against HERPES simplex Virus Type 1 and African Swine Fever Virus. *International journal of Pharmacognosy*, vol 35 (1), pp 12-16.
- Silva O., Duarte A., Pimentel M., Viegas S., Barroso H., Machado Pires J., I., Cabritac J., Gomesa E. (1997). Antimicrobial activity of *Terminalia macroptera* root. *Journal of Ethnopharmacology* vol 57 pp 203-207.
- Silva O., Ferreira E., Vaz Pato M. and Gomes E. (1997). Guinea-Bissau's Plants. In vitro Susceptibility Studies on *Neisseria Gonorrhoeae*. *Pharmacog* 53 : 232-328.
- Taiwo O., Xu Hx, Lee SF (1999). Antibacterial activities of extracts from Nigerian Chewing Sticks. *Phytotherapy Research* vol 13 (8) PP 675-679.
- Tuquet C and Sallé G. (1996). Characteristics of Chloroplasts isolated from two mistletoes Originating from temperate (*Viscum album*) and tropical (*Tapinanthus dodoneifolius*) areas. *Plant physiology and Biochemistry* vol 34 (2) pp 283-292.

# ANNEXE

Annexe Numéro d'ordre	Références des personnes enquêtées		Localité de résidence
	Prénoms et Noms		
1	Bourama	MARIKO	Bamako (Koulouba Djiki-Djiki)
2	Dioba	COULIBALY	Kolokani (Fassoubougou)
3	Dianfan	COULIBALY	Bamako (Point - G secteur I)
4	Diarassou	TRAORE	Kolokani
5	Kanko	COULIBALY	Kolokani
6	Lamine	COULIBALY	Bamako (Point G)
7	Mary	TRAORE	Bamako (Marché Médine)
8	Nékéssé	TRAORE	Kolokani
9	Oumar	TRAORE	Bamako (Sotuba)
10	Oumou	TRAORE	Bamako (Marché Médine)
11	N'Piê	DIARRA	Kolokani
12	Sékou	TRAORE	Kolokani
13	Sékouba	KONATE	Bamako (Sogonafing)
14	Silété	GUIRO	Bamako (Point - Gsecteur III)
15	Soïba	DIARRA	Kolokani
16	Tiémoko	COULIBALY	Bamako ( Point - G secteur II)
17	Wonékê	DIARRA	Kolokani (Komokorobougou)
18	Yaya	TRAORE	Bamako ( Point - G secteur I)
19	Yiritio	COULIBALY	Bamako (Marché Médine)

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**TITRE :** Screening de l'activité biologique de deux espèces de *Tapinanthus* poussant sur *Butyrospermum paradoxum* (Gaertn F.) Hepper (Sapotaceae).

**Auteur :** Bakary TRAORE

**Année :** 2001

**Ville de soutenance :** Bamako

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) B.P 1805, Bamako, Bibliothèque Département Médecine Traditionnelle (Bamako).

### **RESUME :**

Notre étude basée sur le dépistage de l'activité biologique des extraits de deux espèces de *Tapinanthus* poussant sur *Butyrospermum paradoxum* a comporté :

- une enquête ethnobotanique, laquelle a fourni des renseignements sur l'utilisation traditionnelle des *Tapinanthus* et les plantes utilisées traditionnellement dans le traitement des Maladies Sexuellement Transmissibles (MST).

- une identification suivie de la description botanique des *Tapinanthus* et une mention sur leur biologie.

- la phytochimie avec les réactions de caractérisation a permis d'identifier les différents groupements chimiques que renferment les deux espèces de *Tapinanthus*.

- les tests biologiques ont comporté le test anti-candidosique sur *Candida albicans*, le test pour l'activité antibactérienne sur *Escherichia coli*, le test molluscicide sur deux espèces de mollusques (*Bulinus truncatus* et *Biomphalaria pfeifferi*) enfin l'activité antioxydante des extraits aqueux et alcooliques des deux espèces de *Tapinanthus*.

Les concentrations aux tests ont varié entre 10 mg/ml et 60 mg/ml.

Les résultats sont appréciables pour le test antioxydant, tous les extraits testés ont été actifs à 10 mg/ml. L'activité antifongique sur *Candida albicans* a été moyenne avec une zone d'inhibition.

Pour le test molluscicide tous les extraits ont manifesté une certaine activité à 400 ppm avec un taux de mortalité supérieure ou égale 80% pour certains.

**Mots clés :** *Tapinanthus*, antifongique, antioxydant, molluscicide, *Butyrospermum paradoxum*.

## **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 d'honneur, de probité et du désintéressement.
- De ne pas oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine en aucun cas je ne consentirai à utiliser ma connaissance 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.**