

*République du Mali*

*Un Peuple-Un But-Une Foi*

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie

ANNEE : 2002-2003

Thèse N°.....

---

Etude des activités biologiques de fagara  
zanthoxyloides Lam (Rutaceae)

---

Thèse présentée et soutenue publiquement le .....

Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie

Par **Monsieur Igor Passi Lysette Bossokpi**

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

**JURY :**

**Président :**

Pr Amadou Diallo

**Membres**

Pr Abdel Kader Traoré

Dr Kamissoko Fanta Traoré

**Directeur de thèse :**

Dr Drissa Diallo

---

# CHAPITRE 1

## 1.1.

# INTRODUCTION

Dans de nombreux pays en voie de développement, l'accès à la médecine conventionnelle reste limité aux grandes agglomérations. Les difficultés de déplacements, l'insuffisance du personnel qualifié, le coût élevé des prestations et des médicaments conventionnels et les facteurs socio-économiques, ne laissent à une grande partie de la population, d'autres choix, que celui de la médecine traditionnelle pour traiter leurs maladies courantes (Bayes, 1997).

Depuis quelques décennies, les états africains particulièrement ceux au sud du Sahara ont mis en place des politiques visant à valoriser la médecine traditionnelle afin d'assurer une bonne santé de leurs populations.

La flore africaine réputée pour sa richesse comprend des milliers d'espèces végétales parmi lesquelles certaines ont été scientifiquement étudiées et ont abouti à des médicaments utilisables dans les soins de santé primaire selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (Kéita, 1993).

C'est dans cette perspective que le Département de Médecine Traditionnelle de Bamako, centre de référence de l'OMS, travaille en collaboration avec les tradithérapeutes afin de mettre à la disposition de la population des médicaments traditionnels améliorés (MTA) à base de plantes. C'est ainsi que 7 médicaments traditionnels améliorés ont été mis sur le marché pharmaceutique malien (Diallo, 2000).

*Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (*Rutaceae*) est une plante qui pousse spontanément en Afrique tropicale et de préférence sur les sols frais et humides.

Ce sont les racines qui sont utilisées et vendues sur les marchés africains; elles ont une saveur piquante très appréciée et servant à calmer les douleurs dentaires. Son emploi comme cure-dents est particulièrement recommandé. Cette plante, bien connue des tradithérapeutes, est utilisée traditionnellement pour soigner les crises drépanocytaires en empêchant l'hémolyse des hématies (Sofowara, 1971).

Les alcaloïdes de *Fagara zanthoxyloïdes* possèdent en outre une activité antibactérienne et antileucémique (Metou *et al*, 1988).

Notre travail porte sur l'étude de l'activité biologique des extraits de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* à savoir : l'évaluation des activités antioxydante, antalgique, hémostatique, anti-inflammatoire et antifongique ainsi que la détermination de la toxicité aiguë (DL<sub>50</sub>).

## 1.2. **MOTIVATIONS**

En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé s'est résolument engagée à la recherche et à la valorisation de la pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de santé des populations (Diabé, 2001).

Notre travail s'inscrit dans cette perspective et a été motivé par :

- La volonté de valoriser et de promouvoir l'utilisation des plantes médicinales pour l'amélioration de la santé.
- La nécessité de faciliter l'accès des populations aux médicaments à moindre coût, compte tenu du coût élevé des médicaments conventionnels.
- L'intérêt que suscite l'étude des biomolécules naturelles à activités antioxydante, antalgique, hémostatique, anti-inflammatoire et antifongique.
- Objectiver l'utilisation traditionnelle de *Fagara zanthoxyloïdes* dans le traitement des affections bucco-dentaires.

## 1.3.

# OBJECTIFS

### 3.1. Objectif général :

- Notre objectif général est d'évaluer les activités biologiques ainsi que la toxicité aiguë des extraits de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

### 3.2. Objectifs spécifiques :

- Déterminer l'activité antalgique des extraits aqueux de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Déterminer les activités hémostatiques des extraits aqueux et organiques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Déterminer l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Déterminer l'activité antioxydante des extraits aqueux et organiques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Déterminer l'activité antifongique des extraits aqueux et organiques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Déterminer la toxicité aiguë (DL<sub>50</sub>) par voie orale des extraits aqueux de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Déterminer la toxicité aiguë (DL<sub>50</sub>) par voie intra-péritonéale des extraits aqueux de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

# **CHAPITRE 2 :**

# **GENERALITES**

## 2.1.1. LES ANTIOXYDANTS

### 2.1.1.1. Généralités

Présent dans l'air pour environ une partie sur cinq, l'oxygène est indispensable à la vie de la plupart des êtres vivants et permet la respiration, plus généralement les oxygénations. On l'utilise en thérapeutique en inhalation contre l'anoxie globale ou cellulaire, les hémorragies, de nombreuses affections pulmonaires, les embolies gazeuses des plongeurs etc....

Elément gazeux de la seizième colonne de la classification périodique des éléments, tous les organismes vivants anaérobies utilisent le haut niveau énergétique de l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) pour oxyder les hydrates de carbone, les protéines et les graisses afin de produire du  $CO_2$ , de l'eau et de l'énergie nécessaire au processus de la vie. En plus de son rôle dans la conversion de l'énergie, l'oxygène est utilisé par des enzymes telles que les monoamino-oxydases pour métaboliser des composés endogènes et exogènes (Cavin, 1999).

Indispensable à la vie, l' $O_2$  est également une source d'agression à laquelle sont soumis tous les êtres vivants. En effet, sous l'action des rayons UV, des radiations ionisantes, de nombreux métaux de transition et au cours de diverses réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent telles que l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , les peroxydes alkyles  $ROOH$  et les radicaux hydroxyles  $OH$ , peroxydes  $ROO$ , et alkoxydes  $RO$ . On les désigne souvent comme espèces réactives de l'oxygène. Ces dernières sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (les macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus. Toutefois, les bienfaits de ces composés hautement toxiques ne restent pas sans conséquence principalement pour les structures biologiques des cellules (protéines lipides, ADN). De nombreuses pathologies parmi lesquelles l'athérosclérose, l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, le mongolisme, et la neurodégénération sont en partie liées à l'action de ces formes réactives de l'oxygène. (Müller, 1992 ; Harman, 1992).

Les radicaux libres semblent également participer aux phénomènes de vieillissement qui pourraient être la conséquence des dommages oxydatifs irréversibles accumulés tout au long de l'existence (Seelert, 1992).

On entend par radical libre, n'importe quelle molécule contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres.

Les radicaux libres sont cependant une cible particulièrement prometteuse pour améliorer les traitements thérapeutiques à différents stades pathologiques (Harman, 1992).

L'homéostasie de la cellule normale est un équilibre fragile entre la formation de pro-oxydants et leur élimination (antioxydant). Si cet équilibre est rompu en faveur de la formation des pro-oxydants, l'organisme endure ce qu'on appelle le stress oxydatif. Il y a donc une surproduction de pro-oxydants que la cellule ne peut plus éliminer.

Dans la majorité des cas les pro-oxydants ne sont pas les causes mais jouent plutôt un rôle secondaire dans le processus primaire de la maladie. Ceci ne signifie pas pour autant que le stress oxydatif est sans importance. Ainsi par exemple, les dommages oxydatifs secondaires causés aux lipides des parois des vaisseaux sanguins contribuent significativement au développement de l'athérosclérose (Halliwell, 1996).

#### **2.1.1.2. Définition des Antioxydants**

On entend par antioxydant, toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de types de molécules *in vivo*. Ainsi lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Il s'agira principalement d'enzymes : la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faibles masses moléculaires comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Michiels *et al*, 1994).

En plus de ces substances propres à l'organisme, les médicaments et l'alimentation peuvent être également d'autres sources d'antioxydants.

En ce qui concerne les médicaments, de nouveaux composés aux propriétés antioxydantes sont en cours de développement.



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

► **Le Probucol**<sup>®</sup> (Lurselle): est un médicament qui en plus de ces effets reconnus dans la baisse du taux sanguin de cholestérol, prévient l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL).

► **La N – acétylcystéine** : est une molécule intéressante qui pénètre les cellules et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion. Des recherches ont également démontré que la N – acétylcystéine peut être utile dans le traitement des blessures de poumon dues à des espèces réactives de l'oxygène.

Pour ce qui concerne l'alimentation, l'organisme utilise les substances ingérées comme antioxydants. Les principaux antioxydants naturels sont les Acide ascorbique et la Tocophérol ainsi que le  $\beta$ -carotène.

► **Acide ascorbique** : Vitamine C : est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E ( Sies et Sthal, 1995). On retrouve la vitamine C principalement dans les aliments suivants : les légumes, le chou, le poivron, le persil, les agrumes et la kiwi.

► **Tocophérol** : Vitamine E prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales ( huiles d'arachide, de soja, de chardon, de tournesol et d'olive pressées à froid) ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs, et les légumes à feuilles vertes.

► **Le  $\beta$ -carotène** : qui outre l'activité provitaminique A possède la capacité de capter l'oxygène singulet. On le retrouve dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye et autres fruits jaunes.

La recommandation officielle parle d'un apport quotidien de 60 mg de vitamine C et 10 mg de vitamine E. Il n'en existe pas pour le  $\beta$ -carotène. Toutefois ces quantités suffisent juste pour prévenir les phénomènes de carences. C'est la raison pour laquelle les spécialistes recommandent en général un apport quotidien nettement plus élevé : 150 à 300 mg de vitamine C, 50 à 150 mg de vitamine E et 2 à 6 mg de  $\beta$ -carotène.

### **2.1.1.3 Les antioxydants naturels**

L'intérêt porté aux antioxydants naturels ne cesse de croître ces dernières années. En effet, on trouve dans la littérature de plus en plus de publications sur des composés naturels aux propriétés antioxydantes (Potterat, 1997).

Les procyanidines du thé vert et du thé noir (Weissburger, 1997) et les polyphénols du vin rouge ont été particulièrement étudiés dans cette optique (Tamura et Yamagami, 1994).

En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importants, nous pouvons citer l'ail (*Allium sativum* L ; *Liliaceae*) et le ginkgo (*Ginkgo biloba* L ; *Gingkoaceae*) qui sont utilisés dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et circulatoires dues à la vieillesse (Yamasaki *et al*, 1994).

Les antioxydants naturels sont également étudiés dans le but de trouver de nouvelles structures modèles pour le développement des médicaments thérapeutiques ou protecteurs. Ils représentent une alternative à l'utilisation d'antioxydants synthétiques tel que le butylhydroxytoluène (BHT) ou le butylhydroxyanisol (BHA). Depuis ces 10 dernières années, il a été découvert de nombreuses classes de substances naturelles ; le nombre de composés connus ne cesse d'augmenter (Cavin, 1999).

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures.

Ce sont pour la plupart des composés phénoliques.

On définit par composé phénolique, tout composé possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituants hydroxyles, incluant différents groupes fonctionnels dérivés (esters, glycosides, etc....). Ils sont répandus parmi les plantes alimentaires et sont régulièrement consommés par un grand nombre de personnes. Parmi ces composés, les flavonoïdes représentent la classe de substances la plus étudiée (Bors *et al*, 1990).

N'oublions cependant pas de mentionner d'autres classes de substances telles que les xanthones, les caroténoïdes, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique, les tanins et les lignanes pour lesquelles on a également pu établir des activités antioxydantes.

#### **2.1.1.3.1. Les Flavonoïdes**

Ce sont des groupes de métabolites secondaires les plus répandus parmi les plantes et par conséquent également un des groupes les plus étudiés. On les trouve dans presque toutes les parties de la plante à différentes concentrations, où ils jouent un rôle déterminant dans

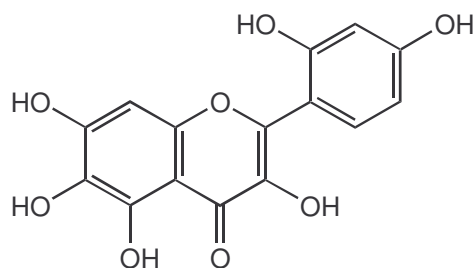
le système de défense. Les flavonoïdes sont largement présents dans les fruits, les légumes, le thé et le vin.

L'apport quotidien de flavonoïdes au sens large est estimé à 1 g dans les pays de l'ouest, mais ils sont généralement très mal résorbés dans le tractus gastro-intestinal (Formica et Regelson, 1995). Les flavonoïdes sont également très intéressants du point de vue médical car ils sont associés à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoires, antihépatotoxiques, anti-tumorales, anti-hypertensives, antithrombotiques, antibactériennes, antiallergiques et antioxydants (Anderson *et al.* 1996).

Les flavonoïdes peuvent fonctionner soit comme chélateurs de métaux (quercétine, catéchine), soit comme capteurs de radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes, et peroxydes (Madhavi *et al.* 1996).

Les relations structure-activité antioxydantes des flavonoïdes et de composés phénoliques ont démontré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Salvi, 1998).

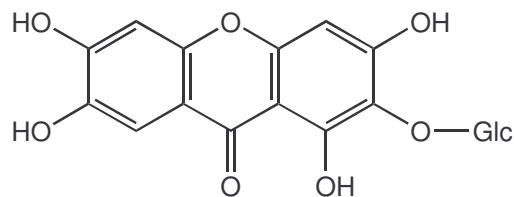
Parmi les flavonoïdes, citons la morine qui présente non seulement une activité antioxydante envers les radicaux peroxydes, mais également une activité hépato-protectrice. Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines à faibles densités (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogenèse.



Morine

### **2.1.1.3.2 Les xanthones**

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthones sont l'inhibition de la monoamine oxydase, leurs activités antimicrobiennes et leurs cytotoxicités (Hostettmann, 1989). Cependant, suite au rapport sur les propriétés antioxydantes de la mangiférine (Sato *et al.* 1992), de nombreuses études ont démontré que ces polyphénols possèdent également de très intéressantes propriétés d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés capteurs de radicaux libres contre les anions superoxydes (Andersson *et al.*, 1996)



Mangiférine

### 2.1.1.3.3. Les coumarines

Les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (Andersson *et al.* 1996).

### 2.1.1.3.4. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des constituants membranaires des chloroplastes et forment un groupe de pigments liposolubles. Ils contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. On les retrouve souvent dans les plantes alimentaires.

Le  $\beta$ -carotène est le caroténoïde le plus abondant dans la nourriture et il semblerait qu'il diminue les risques de certains cancers ( Peto *et al.* 1981).

Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxydes et alkoxydes en capturant les radicaux libres (Krinsky, 1989).

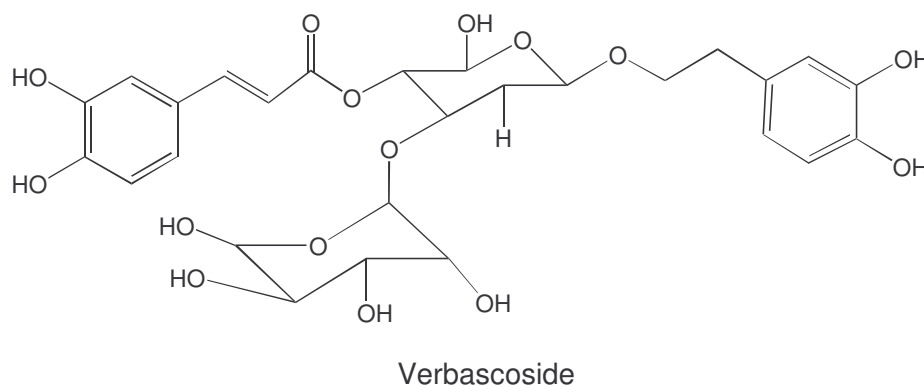
### 2.1.1.3.5. Les dérivés d'acides phénoliques

Ils sont présents dans de nombreux fruits et légumes, soit sous forme libre, soit sous forme de dérivés. On les retrouve principalement dans le café (4%), les prunes(0,9%), les myrtilles (0,2%), le raisin (0,2%), et les pommes (0,1%) (Huang et Ferraro, 1991).

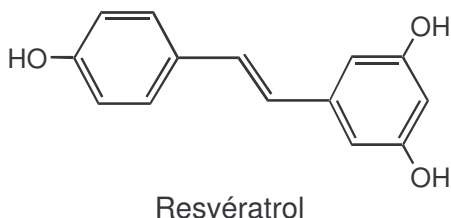
Ces dérivés possèdent également des propriétés antitumorales ; En effet, ils peuvent bloquer la nitrosation des amines soit par réduction du nitrite en oxyde nitrique, soit par formation de dérivés C-nitroso en agissant non seulement *in vitro*, mais également *in vivo* (Huang et Ferraro, 1991). Ces composés possèdent des activités antioxydantes et antiradicalaires. Ainsi, l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chorogénique captent non seulement les radicaux superoxydes produits par le système NADPH/methosulfate de

phénazine mais présente en plus de fortes activités antioxydantes et antiradicalaires envers le radical DPPH (Ohnishi *et al*, 1994).

De nombreux glycosides du phénylpropane, en particulier ceux qui possèdent une partie catéchole, ont montré de fortes activités antioxydantes. Ainsi, le verbascoside, un composé ubiquitaire très étudié, inhibe l'auto oxydation de l'acide linoléique et la peroxydation lipidique microsomale. Il présente également une forte inhibition de la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries et possède une forte capacité de capter le radical libre DPPH (Potterat, 1997)



Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin 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 potentiel chez l'être humain (Jang *et al*. 1997)



#### **2.1.1.3.6. Les tanins**

Les tanins hydrolysables et les procyanidines présentent des propriétés antioxydantes significatives. On a pu démontrer qu'ils inhibent aussi bien l'auto oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate que la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes.

Les tanins agissent en donateurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Des radicaux taniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation lipidique. Ils sont par conséquent de très bons capteurs de radicaux libres. Un exemple très souvent relaté est celui du thé vert (*Camellia sinensis* O.Kuntze, *Theaceae*). En effet, de part son utilisation abondante dans l'alimentation, de nombreuses recherches ont été effectuées sur les propriétés antioxydantes ainsi que sur les mécanismes d'action de cette plante.

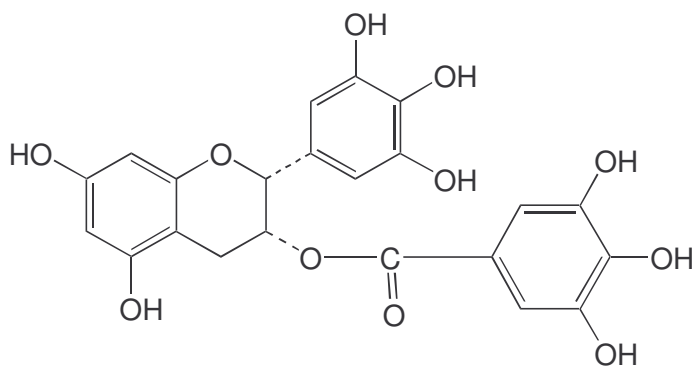
Les substances actives sont les gallocatéchines. Le thé vert contient 9 à 13 % de gallate d'épigalocatéchine, 3 à 6% de gallate d'épicatéchine et 3 à 6% d'épigalocatéchine.

La Chine et le Japon sont les plus grands consommateurs de thé vert ; certains grands buveurs peuvent consommer jusqu'à 1 g de gallate d'épigalocatéchine par jour (Huang et Ferraro, 1991).

Les effets bénéfiques des polyphénols du thé vert, particulièrement le gallate d'épigalocatéchine sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leurs capacités de capter les radicaux libres.

Ces substances présentent également des propriétés anticancéreuses non négligeables.

De nombreuses études ont montré, qu'après administration d'extraits de thé vert, on a constaté une diminution significative des cancers (Gutman et Ryu, 1996). Les polyphénols du thé vert ont aussi montré des propriétés antimutagènes (Weissburger, 1997).

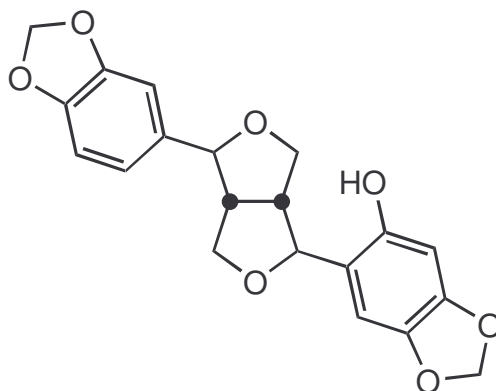


Gallate d'épigalocatéchine

### **2.1.1.3.7. Les lignanes**

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leurs activités antioxydantes sont les dérivés bifuranyles des graines de sésames (*Sesamum indicum* DC. *Pedaliaceae*).

Les lignanes diarylfuranofuraniques tels que le sesaminol ont démontré des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de cette huile (Potterat, 1997).



Sésaminol

#### **2.1.1.4. Méthodes de tests antioxydants**

##### **2.1.1.4.1. Test en solution**

###### **Principe :**

Détection de l'activité antioxydante d'une substance en solution par décoloration de la Crocine isolée du *Safran* (*Crocus sativa* L., *Iridaceae*) (Bors *et al*, 1984).

##### **2.1.1.4.2. Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosyme**

###### **Principe :**

Détection de l'activité antioxydante d'une substance par oxydation des lysosymes par le 2,2'-azobis, 2-amidinopropane (Salvi, 1998).

##### **2.1.1.5.3. Dépistage de l'activité antioxydante sur CCM par le DPPH**

**Principe :** Réduction des radicaux libres fournis par le DPPH sur des plaques CCM.

Nous avons utilisé ce test dans notre méthodologie pour déterminer l'activité antioxydante. (Takao *et al*, 1994)

## **2.1.2. LA DOULEUR**

### **2.1.2.1. Généralités**

La douleur est un phénomène dont la dualité rend souvent le praticien perplexe. Cette dualité est un phénomène manifeste à plusieurs égards.

Du point de vue sémiologique, la douleur est un symptôme, un signal souvent salvateur car le premier à attirer l'attention sur un phénomène pathologique ; elle peut aussi, par son intensité et sa durée, devenir un véritable syndrome, retentissant sur les grandes fonctions organiques, capable à lui seul d'aggraver l'état du malade.

La Douleur a été définie comme une expérience sensorielle et émotive désagréable, associée à des lésions tissulaires présentes ou potentielles ou décrites comme telles.

Les douleurs par excès de nociception proviennent d'un accroissement de l'information portée par les fibres fines, secondaires à une agression somatique ou viscérale ; elles relèvent d'un traitement par les analgésiques proprement dits ( Maïga, 1989 ).

### **2.1.2.2. Caractéristiques de la douleur**

La douleur est caractérisée par un ensemble de manifestations qui sont en général des :

- Manifestations cliniques : troubles trophiques, oedèmes.
- Manifestations végétatives : vasoconstriction, mydriase, tachycardie.
- Modifications de la pression artérielle, sudations
- Manifestations motrices : retrait, sursaut, fuite.
- Manifestations psychiques : la souffrance causée par une douleur peut affecter la vie psychique et affective d'un individu.

### **2.1.2.3. Mécanismes de déclenchement de différents types de douleur**

- a) Les douleurs superficielles peuvent être déclenchées par des stimuli mécaniques (pression exerçant au niveau des téguments) et par des stimuli thermiques (froid ou chaleur)
- b) Les douleurs profondes sont dues à divers phénomènes dont les plus courants sont :
  - augmentation de la pression au niveau des viscères
  - action mécanique de compression d'un nerf



#### **2.1.2.4. Différents types de douleur**

On peut distinguer trois principales classes de douleurs :

- Douleurs physiologiques
- Douleurs neurologiques
- Douleurs psychogènes

##### **a) Douleurs physiologiques :**

Elles sont dues à une hyperstimulation de terminaisons libres. Ces stimulations peuvent être mécaniques ou chimiques :

- stimulations mécaniques :
- exemple : douleurs osseuses
- stimulations chimiques :

exemple : douleur de l'ulcère, goutte aiguë, dépôt d'urate de sodium dans l'articulation

##### **b) Douleurs neurologiques :**

Elles sont dues à des lésions des voies nerveuses ; elles peuvent être spontanées ou provenir d'une stimulation peu intense.

Ces douleurs proviennent des lésions du SNC ; dans ce cas il y a une levée de l'inhibition exercée par le système de contrôle (cortex) .

Elles peuvent être aussi secondaires à des lésions du SNP.

##### **c) Douleurs psychogènes :**

Ce sont des douleurs dont la cause relève du fonctionnement psychique. elles ne répondent pas réellement au traitement par les antalgiques (Rainsford, 1984).

#### **2.1.2.5. ANTALGIQUES CONVENTIONNELS**

##### **2.1.2.5.1. Définition**

Ce sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations douloureuses sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations. Ils constituent une famille hétérogène du point de vue chimique et pharmacologique mais possèdent en commun des effets régiosélectifs sur les influx nociceptifs avec dans certains cas une action centrale dans les hyperthermies.

### **2.1.2.5.2 Classification des antalgiques**

Deux grandes familles thérapeutiques composent cette classe pharmacologique :

#### **2.1.2.5.2.1. Antalgiques centraux**

La morphine, originaire d'une plante: *Papaver somniferum* L. exerce son effet en agissant sur des récepteurs spécifiques présents dans différentes régions du système nerveux central. Elle participe à l'analgésie et aux autres actions pharmacologiques qui y sont associées.

#### **2.1.2.5.2.2 Analgésiques périphériques**

Ils agissent localement au niveau du stimulus douloureux ; leur mode d'action, souvent proche, fait intervenir pour l'essentiel l'inhibition des prostaglandines. On y retrouve des antalgiques purs, des analgésiques antipyrétiques et des anti-inflammatoires.

#### **2.1.2.5.3 Mécanisme d'action antalgique**

Prenons comme référence, le chef de file qui est un salicylé : acide acétyle salicylique (AAS) ou Aspirine®.

##### **► Acide Acétyle - Salicylique : (AAS)**

L'action antalgique de l'AAS s'explique principalement par un mécanisme périphérique.

En injectant de la bradykinine comme stimulus dans l'artère splénique, l'administration d'AAS prévient l'apparition de la décharge de potentiels afférents au niveau du nerf splanchnique qui est normalement évoquée par ce stimulus chimique.

Les études sur le rôle des prostaglandines apporteront d'autres précisions.

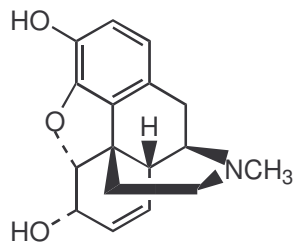
La prostaglandine E<sub>1</sub> contribuerait à la douleur de l'inflammation en sensibilisant les terminaisons nerveuses afférentes à l'action algogène d'autres médiateurs libérés dans le foyer inflammatoire, comme la bradykinine ou l'histamine.

L'AAS qui inhibe la synthèse des prostaglandines s'opposerait à cette sensibilisation en exerçant ainsi un effet antalgique modéré.

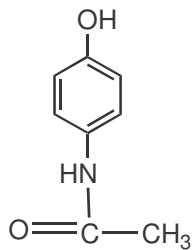
Une telle explication de l'action des salicylés n'est concevable que dans le cas de douleurs associées à une lésion tissulaire entraînant la libération de facteurs de l'inflammation.

La douleur ne constituant qu'un des symptômes de l'inflammation, on ne peut donc assimiler l'effet antalgique à un effet anti-inflammatoire. D'ailleurs certains antalgiques antipyrétiques (Dérivés du para amino phénol) sont pratiquement dépourvus d'activités anti-inflammatoires (Rainsford, 1984).

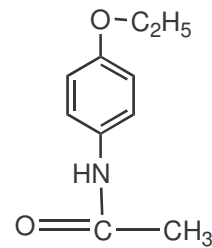
### 2.1.2.5. Structures chimiques de quelques antalgiques conventionnels



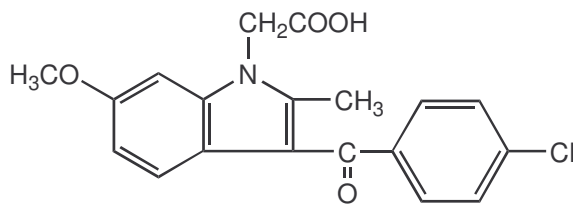
morphine



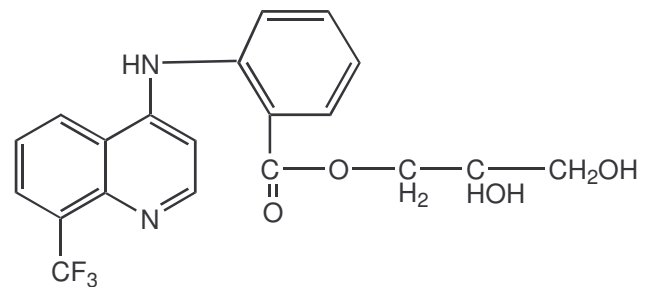
Paracétamol



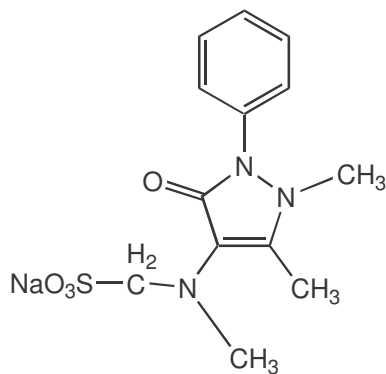
Phénacétine



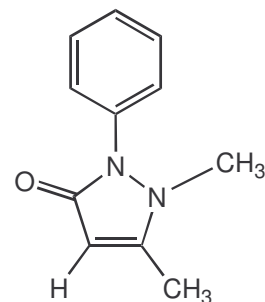
Clométacine (Duperan®)



Floctafénine (Idarac®)



Novalgine



Phénazone

## **2.1.2.7. Tests de l'activité antalgique**

### **2.1.2.7.1. Test à la queue**

#### **Principe :**

Réduire par des substances antalgiques, la douleur provoquée chez les rats, par stimulation d'une douleur au niveau de la queue

### **2.1.2.7.2. Test à la plaque chauffante (Hot plate test)**

#### **Principe :**

Réduire, par des substances antalgiques, la douleur provoquée en déposant une souris sur une plaque chauffante.

### **2.1.2.7.3. Test de torsion ( Writhing test)**

#### **Principe :**

Réduire par des substances antalgiques, la douleur provoquée chez les souris par l'injection d'une substance irritante capable d'entraîner des mouvements de torsion (Elizabeth, 1996). Nous avons utilisé les deux derniers tests dans notre méthodologie pour déterminer l'activité antalgique.

## **2.8. Quelques plantes à activité antalgique**

**TABLEAU I : QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTALGIQUE**

<b>Nom scientifique</b>	<b>Famille</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Références</b>
<i>Argemone mexicana</i> L.	<i>Papavéraceae</i>	Feuilles	Kerharo et Adams, 1974
<i>Maytenus senegalensis</i> Lam	<i>Celastraceae</i>	Racines	Mariko <i>et al</i> , 2002
<i>Sterculia setigera</i> Del.	<i>Sterculiaceae</i>	Racines	Kerharo et Adams, 1974
<i>Trichilia catigua</i> A.Juss	<i>Meliaceae</i>	Racines	--

## **2.1.3. L' HEMORRAGIE**

### **2.1.3.1 Généralités**

La survenue d'une plaie vasculaire entraîne un mécanisme de défense qui lutte contre la perte du sang hors du système vasculaire. Ce mécanisme est d'ampleur variable selon l'importance des dégâts.

- S'il s'agit de la plaie de vaisseaux capillaires , l'hémostase primaire sera suffisante pour arrêter l'hémorragie.
- S'il s'agit de la plaie d'un vaisseau de plus gros calibre, l'hémostase primaire sera renforcée par la coagulation plasmatique qui est nécessaire pour former un caillot de fibrine insoluble et solide.
- Lorsque la cicatrisation du vaisseau sera terminée, les mécanismes de la fibrinolyse permettront la dissolution du caillot qui constitue un obstacle à la circulation vasculaire.
- Si la plaie est trop importante : section d'une artère ou d'une veine fémorale sous-clavière ou humérale, l'hémostase et la coagulation sont inefficaces et seule la suture du vaisseau peut arrêter l'hémorragie.

La thérapeutique anti-hémorragique a été longtemps dominée par les hémostatiques généraux et locaux, seules armes disponibles souvent peu efficaces.

Deux éléments ont été déterminants dans les progrès du traitement des maladies hémorragiques : l'amélioration et la précision du diagnostic, la production en quantité suffisante de fractions coagulantes isolées à partir du plasma.

Les hémophilies A ou B représentent un exemple de cette évolution. Le diagnostic du facteur manquant est un acte de routine pour les laboratoires d'hémostase et l'on dispose de produits de substitution qui contiennent spécifiquement le facteur manquant. Ces éléments ainsi que la pratique de l'automédication dans ces affections font que le médecin se trouve confronté à de nombreux problèmes d'ordre thérapeutique dont les implications économiques ne peuvent être méconnues. Parallèlement à ces progrès, des médicaments utilisés pour d'autres propriétés se sont révélés être actif sur certains facteurs de l'hémostase et permettent ainsi de corriger, au moins partiellement, des déficits en facteurs de coagulation.

### **2.1.3.2 Physiologie de l'hémostase**

C'est un ensemble de mécanismes mis en jeu par l'organisme pour prévenir les saignements spontanés ou l'arrêt des hémorragies par rupture vasculaire ; ce processus comporte schématiquement trois grandes étapes.

#### **2.1.3.2.1 Etapes de l'hémostase**

- l'hémostase primaire
- la coagulation
- la fibrinolyse

##### **2.1.3.2.1.1. L'hémostase primaire**

assure la formation du clou plaquettaire encore appelé caillot blanc. Ce processus fait intervenir des vaisseaux, des plaquettes et des facteurs plasmatiques qui sont le facteur Von Wille brand (VWF) et le facteur fibrinogène .

##### **► Le temps vasculaire**

Ce temps met en jeu l'endothélium qui est une surface thrombo-résistante et le sous endothélium qui est une surface thrombogénique. Après rupture du vaisseau, une vasoconstriction instantanée réduit le diamètre de celui-ci et diminue le flux sanguin local.

La mise à niveau du sous-endothélium va initier le temps plaquettaire.

##### **► Le temps plaquettaire**

comprend : - l'adhésion  
- l'activation  
- l'agrégation plaquettaire

##### **■ L'adhésion plaquettaire :**

c'est l'accolement des plaquettes aux éléments du sous-endothélium. Elle fait intervenir trois facteurs à savoir :

- la glycoprotéine Ib (Gp Ib) présente dans la membrane plaquettaire,
- le facteur Von Wille brand présent dans le plasma
- les constituants du collagène et les microfibrilles situés au niveau des vaisseaux.

##### **■ L'activation plaquettaire :**

c'est le passage de l'état de repos à un état activé caractérisé par un changement de forme de la plaquette, une sécrétion et des synthèses biochimiques. Le changement de forme survient rapidement après l'adhésion de la plaquette qui va émettre des pseudopodes et

des invaginations. Au cours de l'activation plaquettaire sont synthétisées des prostaglandines dont la thromboxane A<sub>2</sub> (Tx A<sub>2</sub>) qui est un puissant agrégant plaquettaire et un puissant vasoconstricteur.

Au cours de cette activation apparaît également des activités procoagulantes notamment l'expression du facteur III plaquettaire (F<sub>3</sub>P).

#### ■ **L'agrégation plaquettaire** :

C'est l'accolement des plaquettes les unes aux autres par des mécanismes actifs. Cette agrégation est induite par de nombreux agents appelés agents agrégants. On peut citer dans ce cas l'ADP, la Tx A<sub>2</sub> qui sont libérés au cours de l'activation plaquettaire.

L'accolement entre les plaquettes fait intervenir une glycoprotéine plaquettaire appelée Gp II<sub>b</sub> III<sub>a</sub>, le fibrinogène plasmatique, la thrombospondine (TSP) et le calcium (Ca<sup>2+</sup>).

#### ► **Le temps plasmatique** :

assure la formation d'un gel insoluble de fibrine à travers le facteur VWF et le facteur fibrinogène.

### **2.1.3.2.2. EXPLORATION DE L'HEMOSTASE**

#### **2.1.3.2.2.1. Temps de saignement**

Ce temps sera mesuré globalement par trois techniques :

##### ► **Technique de Duke**

consiste à faire une incision de 1 mm de profondeur au niveau du lobe de l'oreille et à l'aide d'un chronomètre on mesure le temps . Selon cette technique, le temps de saignement d'un sujet normal est de 2 à 4 min et en cas de pathologie, il est supérieur à 5 min.

##### ► **Technique d' IVY incision** :

consiste à faire une incision de 1 cm/mm, sous pression constante de 40 mm de Hg, au niveau de la face intérieure de l'avant bras. Selon cette technique, le temps est de 4 à 8 min et en cas de pathologie, il est supérieur à 10 min.

##### ► **Technique d'IVY 3 points** :

consiste à mesurer le temps de saignement selon le même principe que d' IVY incision mais en procédant par la pratique de 3 points. Ce saignement varie de 2 à 5 min et en cas de pathologie, il est supérieur à 6 min (Bernard *et al*, 1996).

### **2.1.3.3. PHYSIOLOGIE DE LA COAGULATION**

La coagulation du sang est un phénomène par lequel le sang fluide et circulant se transforme en une masse insoluble et immobile. Ce phénomène est lié à la transformation d'une protéine soluble à l'état normal, le fibrinogène, en une masse insoluble : la fibrine.

On appelle caillot, les fibres de fibrine qui ont immobilisés à l'intérieur de leur réseau des cellules du sang. La phase de la coagulation comprend 3 étapes :

- étape de la génération de la prothrombinase
- étape de la thrombinoformation
- étape de la fibrinoformation

#### **2.1.3.3.1. Facteurs de la coagulation :**

Sont désignés par des chiffres romains et affectés du signe "a" lorsque le facteur est activé. La synthèse de ces facteurs a lieu pour la plus part dans le foie. Pour certains, la synthèse dépend de la vitamine K ; on les appelle facteurs dépendant de la vitamine K . Ce sont les facteurs X, IX, VII, II.

A côté de ces facteurs plasmatiques, d'autres interviennent dans la coagulation, ce sont : la prékallcréine dont l'activation aboutit à la formation de la kallcréine kilinogène de haut poids moléculaire (KHPM).

#### **2.1.3.3.2. Etapas de la coagulation**

##### **► étape de la génération de la prothrombinase :**

Elle s'effectue selon deux voies :

La première voie dite intrinsèque qui implique des facteurs dits contacts à savoir le KHPM, la prekallcréine, les facteurs XII, XI et d'autres facteurs plasmatiques qui sont les facteurs IX, X, V, II, le facteur III plaquettaire et le calcium.

Une deuxième voie dite extrinsèque qui implique l'activité des facteurs VIII, X, V, II, la thromboplastine tissulaire et le fibrinogène.

Il y a également une troisième voie dite voie cellulaire qui fait intervenir les monocytes et les macrophages.

##### **► L' étape de le thrombinoformation :**

Elle assure la formation de la thrombine à partir de la prothrombine grâce à l'activité catalytique de la prothrombinase.

##### **► La fibrinoformation :**

- Elle aboutit à la formation de la fibrine insoluble à partir du fibrinogène plasmatique.



### **2.1.3.3.3. Exploration de la coagulation**

#### **2.1.3.3.3.1 Temps de coagulation : TC**

il s'agit d'une technique d'exploration globale au phénomène de coagulation qui consiste à prélever le sang dans un tube sans anticoagulant et à observer le temps que met ce prélèvement pour coaguler.

Ce temps de coagulation varie normalement entre 8 à 12 min à 37° C.

#### **2.1.3.3.3.2 Temps de Quick : TQ**

Concerne la voie extrinsèque tissulaire. On l'exprime en taux de prothrombine (TP). C'est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes en présence de thromboplastine calcique à 37°C. Ce temps varie entre 11 à 12 s et lorsqu'on l'exprime en TP, il est supérieur à 70%.

#### **2.1.3.3.3.3. Temps de céphaline activée : TCA**

explore la voie intrinsèque. C'est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un activateur dont les plus utilisés sont le kaolin et la céphaline à 37°C.

Les résultats sont exprimés en seconde par rapport à un témoin. Le TCA est pathologique, lorsqu'entre le malade et le témoin, on observe une différence de 8 à 10 s.

### **2.1.3.4. PHYSIOLOGIE DE LA FIBRINOLYSE**

La cicatrisation d'une plaie vasculaire passe par la formation initiale d'un caillot de bonne qualité ; la cicatrisation terminée, le caillot va être dissout par un mécanisme enzymatique très semblable, quoi que moins complexe, à celui de la coagulation.

#### **2.1.3.4.1 Mécanisme de la fibrinolyse**

Au contact des cellules endothéliales qui fournissent l'activateur, le caillot de fibrine, enserrant dans ses mailles le plasminogène, est lysé ; c'est à dire que la plasmine formée va découper le caillot insoluble en fragments (produits de dégradation de la fibrine) qui seront éliminés dans la circulation.

### **2.1.3.5. MÉDICAMENTS HÉMOSTATIQUES CONVENTIONNELS**

Ce sont des médicaments qui diminuent le phénomène hémorragique.

La compréhension du mode d'action des hémostatiques n'a pas fait de progrès sensibles dans les dernières années. Leur mode d'action peut se schématiser en médicaments à action vasculaire, plaquettaire, plasmatique ou inhibitrice de la fibrinolyse.

#### **2.1.3.5.1 Hémostatiques à action plaquettaire**

Les cathécholamines :

- Pectine : Arhemapectine<sup>®</sup>
- Adrenal : Levophed<sup>®</sup>
- Dérivés de l'ergot de seigle, Methergin<sup>®</sup>

Vasopressine et apparentés :

- Ornithine-8 vasopressine : Por 8 sandoz<sup>®</sup>
- Arginine vasopressine : Pitression<sup>®</sup>

#### **2.1.3.5.2. Hémostatiques à action plaquettaire**

- Thromboplastine Erce<sup>®</sup> : en application locale, en cas d'hémorragie en nappe, d'épistaxis, de saignement gynécologique et en *per os* lors d'une préparation opératoire.
- Thrombase Transglutine<sup>®</sup> : appliquer localement sous forme de poudre sur une plaie, elle facilite la transformation du fibrinogène en polymère de fibrine.

En application locale sur la plaie sous forme de poudre.

- Etamsylate Dicynone<sup>®</sup> : augmente l'adhésion et la résistance plaquettaires
- Carbazochrome : Adrenoxyl<sup>®</sup>

#### **2.1.3.5.3. Hémostatiques à action plasmatique**

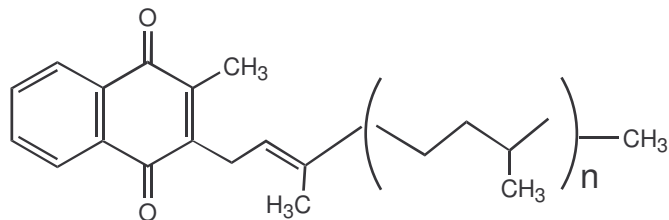
Agissent sur certaines étapes de la coagulation :

- Vitamine K : indispensable à la synthèse de certains facteurs de coagulation

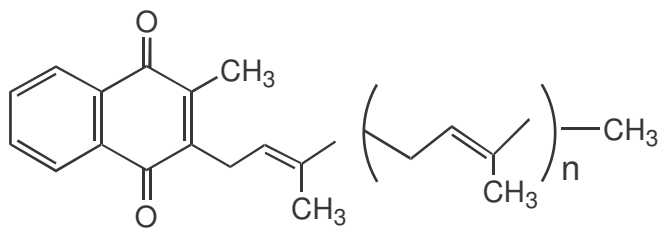
Notons que l'effet de la vitamine K, administrée à un malade, apparaît après 48 heures.

- Sels de Ca<sup>2+</sup> : assure la transformation du prothrombine en thrombine.

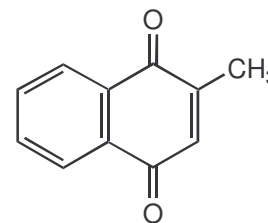
#### 2.1.3.5.4. Structures de la vitamine K et de ses dérivés



Vitamine K



Vitamine K<sub>1</sub>



Vitamine K<sub>2</sub>

#### 2.1.3.6. Méthodes de tests hémostatiques

##### 2.1.3.6.1. Test sur la coagulation sanguine

###### Principe :

Mesurer le temps d'apparition du caillot de fibrine dans un pool de plasma humain au moyen d'un appareil spécifique.

###### a) Temps de thrombine

###### Principe :

Mesurer le temps d'apparition du caillot de fibrine d'un plasma en présence de thrombine.

###### b) Temps de céphaline

###### Principe :

Mesurer le temps d'apparition du caillot de fibrine d'un plasma en présence de céphaline (Potterat, 1991).

##### 2.1.3.6.2. Mesure du temps de coagulation par la méthode de Lee et White

Principe : Mesurer le temps de coagulation du sang en présence de substances hémostatiques.

Nous avons utilisé cette technique dans notre méthodologie pour déterminer l'activité hémostatique.

### 2.1.3.7. Quelques plantes à activité hémostatique

Un groupe de chercheurs japonais a ainsi publié plusieurs études sur les principes actifs anti-hémorragiques d'espèces utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise.

Sur la base de tests sur les souris in vivo, ces auteurs ont isolé une dizaine de composés, dont plusieurs flavonoïdes, possédant dans leur modèle des propriétés hémostatiques.

Leur mode d'action n'a toute fois pas été déterminé.

**TABLEAU II** : SUBSTANCES HEMOSTATIQUES ISOLEES DES PLANTES UTILISEES EN MEDECINE TRADITIONNELLE CHINOISE

Composé	Source	Référence
Deucichine	<i>Panax ginseng</i>	Kosuge <i>et al</i> (1981)
Acide 3,3',4-tri- <i>O</i> -methyl ellagique	<i>Sangnisorba officinalis</i>	-- (1984)
Wédélolactone	<i>Hypericum erectum</i>	Kosuge <i>et al</i> (1985)
Quercitrine	<i>Biota orientalis</i>	Kosuge <i>et al</i> (1985)
Quercétine	<i>Sophora japonica</i>	Ishida <i>et al</i> (1987)
Quercétine	<i>Nelumbo nucifera</i>	Ishida <i>et al</i> (1988)
Pectolinarine	<i>Cirsium japonicum</i>	Ishida <i>et al</i> (1987)
Isorahmnétine 3- <i>O</i> -rutinoside 7- <i>O</i> -glucoside	<i>Thympha lactifolia</i>	Ishida <i>et al</i> (1988)

Il faut également relever les investigations de Kone-Bamba en 1987 consacrées aux plantes médicinales préconisées comme hémostatiques dans la médecine traditionnelle ivoirienne. Dans le cadre d'un screening, ils ont décelé une activité procoagulante de cinq espèces : *Jatropha curcas* (*Euphorbiaceae*), *Vernonia colorata* (*Compositae*), *Hyptis pectinata* (*Labiatae*), *Piliostigma thonningii* (*Cesalpiniaceae*) et *Spondias mombin* (*Anacardiaceae*). Le jus frais des racines de ces plantes modifie le temps de thrombine et agit donc au niveau de la polymérisation de la fibrine. Les principes actifs ne sont pas encore connus.

## 2.1.4. LES INFLAMMATIONS

### 2.1.4.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène. Elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : chaleur, douleur, rougeur et tuméfaction (quadrilatère de Celse)

Ce terme désigne aussi un processus général réactionnel de tout ou une partie de l'organisme à une agression, qu'elle soit chimique, physique, bactérienne, virale, antigénique ou parasitologique.

Elle peut être aiguë, subaiguë ou chronique. Ce processus de défense de l'organisme peut parfois évoluer de façon anormale et déclenche des maladies auxquelles on oppose des médicaments dits anti-inflammatoires pouvant être conventionnels ou traditionnels.

L'inflammation ainsi définie se déroule classiquement en trois phases :

- ▶ Une première phase qui consiste à une augmentation de la perméabilité capillaire entraînant œdème et gonflement. C'est au cours de cette phase que les substances responsables de la douleur sont libérées.
- ▶ Une deuxième phase caractérisée par une prédominance des polynucléaires dans l'infiltration cellulaire puis il y a diminution de leur nombre pour faire place à des cellules mononuclées.
- ▶ Une troisième phase dite de réparation dans laquelle le fibroblaste est la cellule dominante.

Les facteurs déclenchant une inflammation sont multiples et variées : chaleur, lumière, traumatisme, microbe, toxique, etc. ...

Beaucoup d'éléments cellulaires interviennent dans les inflammations. Ce sont :

- les polynucléaires neutrophiles :
- les polynucléaires éosinophiles
- les lymphocytes
- les plasmocytes

### 2.1.4.2. Effets locaux et généraux de l'inflammation

Un foyer inflammatoire, même localisé est susceptible d'avoir une répercussion sur l'ensemble de l'organisme.

Lorsqu'il y a inflammation, surtout s'il s'agit d'une réaction liée à un processus infectieux, le taux de leucocytes sanguins augmente. Ce phénomène est dû au déversement dans le sang des leucocytes jeunes de la moelle et à une accélération de la maturation des myélocytes médullaires. Il en résulte une augmentation du taux des polynucléaires jeunes aux noyaux peu segmentés dans le sang.

Les mécanismes réglant les modifications des leucocytes sanguins ne sont que partiellement connus. En effet, la majorité des infections s'accompagnent de leucocytes ; il y a des cas néanmoins où le taux de leucocytes sanguins diminue (leucopénie) ; c'est ce qui se voit notamment dans la fièvre typhoïde.

Outre les modifications de sa teneur en globules blancs, le sang présente souvent au cours de l'inflammation une altération de sa composition chimique et plus particulièrement sa teneur en fibrinogène. Ces changements peuvent avoir une répercussion sur la coagulation sanguine et favoriser le développement d'une thrombose.

### **2.1.4.3. ANTI-INFLAMMATOIRES CONVENTIONNELS**

#### **2.1.4.3.1. Généralités**

Dès l'époque d'Hippocrate, il y a environ 2400 ans, les propriétés analgésiques et anti-inflammatoires de divers extraits végétaux contenant des salicylés étaient connues et mises à profit chez l'homme (Rainsford, 1984). En particulier étaient utilisées des préparations à partir de l'écorce de saule *Salix alba* (*Salicaceae*). L'isolement de l'acide salicylique et l'approfondissement des connaissances pharmacologiques sur les salicylés ( propriétés antipyrétique, uricosuriques, toxicités digestives, auditives) datent du 19<sup>e</sup> siècle.

Le développement commercial des salicylés devint important avec la synthèse chimique, par Félix Hoffman, de l'acide acétyle salicylique mis sur le marché par les laboratoires Bayer en 1899 sous le nom de spécialité Aspirine<sup>®</sup>.

Il a fallu attendre les années 1950 pour voir apparaître sur le marché la phénylbutazone, suivit de l'indométacine quelques années plus tard.

En effet, en 1949, les propriétés anti-inflammatoires de la cortisone étaient établies; stimulant ainsi la recherche d'autres anti-inflammatoires dépourvus d'effets néfastes des hormones stéroïdiennes d'où l'appellation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

### 2.1.4.3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont mieux définis comme étant la classe médicamenteuse qui possède les mêmes propriétés pharmacologiques que l'acide acétyle salicylique (Aspirine<sup>®</sup>) : analgésique, antipyrétique, anti-inflammatoire.

Les AINS ont une action symptomatique rapide. Ils permettent de réduire les signes locaux d'une réaction inflammatoire : douleur, rougeur, chaleur, œdème et impotence fonctionnelle qui peuvent en résulter.

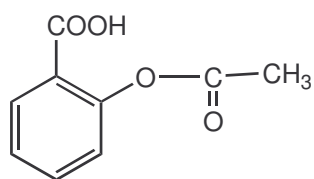
Les AINS ont d'autres effets en commun : toxicité gastro-intestinale, effets rénaux, action anti-agrégante plaquettaire, retard à l'accouchement, asthme induit et d'autres réactions du type allergique. Certains peuvent, selon la circonstance, correspondre soit à des effets recherchés soit à des effets indésirables.

### 2.1.4.3.3. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

L'effet spectaculaire de la cortisone dans la polyarthrite rhumatoïde a été rapporté par la publication princeps de Hench en 1949. Cette cortisone avait été isolée du cortex surrénal par Kendal (Etats unis) et par Reichstain (Suisse) dès 1934 mais synthétisée seulement en 1949. Depuis lors, grand nombre de ces dérivés ont été obtenus plus spécifiquement et puissamment anti-inflammatoire (Dembelé, 1993).

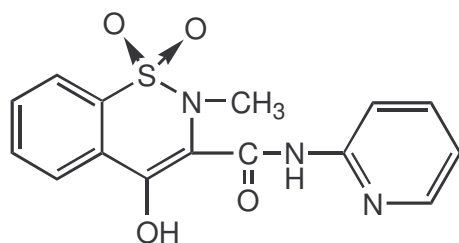
### 2.1.4.3.4. Quelques structures des anti-inflammatoires

#### ► Dérivé salicylé

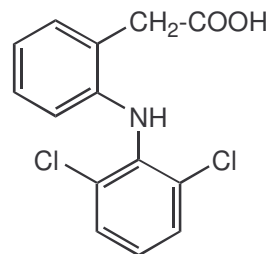


Acide acétyle salicylique (Aspirine<sup>®</sup>)

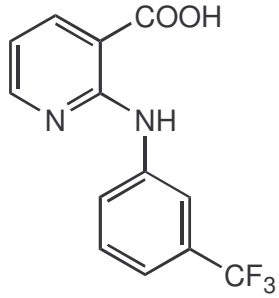
#### ► Acide fénamique



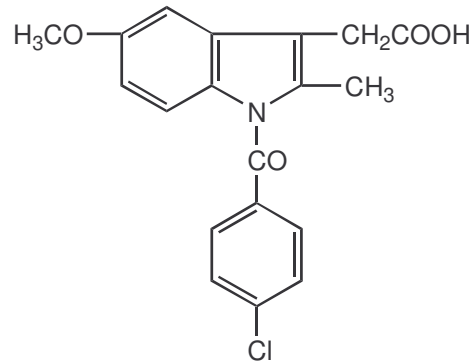
Piroxicam (Feldene<sup>®</sup>)



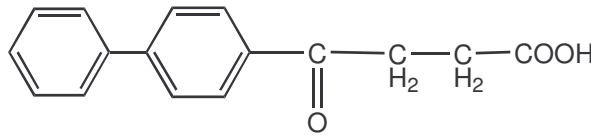
Diclofénac (Voltarene<sup>®</sup>)



Acide niflumique (Nifluril®)



Indométacine (Indocid®)



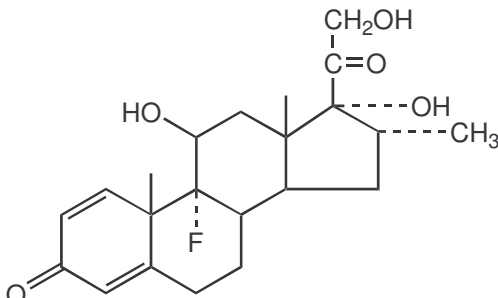
Ibuprofene ( Brufen®)

#### 2.1.4.3.5. Anti-Inflammatoires Stéroïdiens (AIS) : Glucocorticoïdes

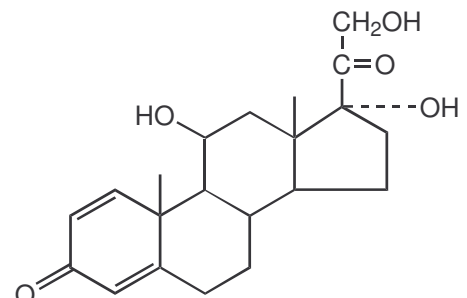
L'utilisation des glucocorticoïdes dans les affections inflammatoires rhumatismales a déjà une longue histoire depuis que Hench a administré la cortisone à 21 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde en 1948.

On sait maintenant mieux apprécier les risques de cette thérapeutique et l'on possède des composés plus actifs et moins dangereux.

#### 2.1.4.3.6. Quelques structures des AIS

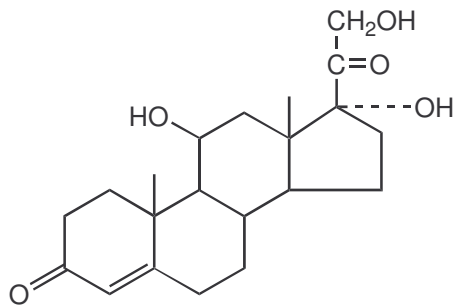


Dexaméthasone



Prednisone





Hydrocortisone (Hydroxy 17  $\alpha$  corticostérone)

### **2.1.4.3.7. Mécanismes d'action des Anti-inflammatoires conventionnels**

#### **2.1.4.3.7.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les mécanismes d'action des AINS ont été l'objet de très nombreuses études *in vivo* et *in vitro* chez l'animal mais aussi exceptionnellement chez l'homme ; les plus couramment retenus se caractérisent par :

- ▶ Leurs effets sur le métabolisme des glucides qui peuvent se manifester par une augmentation du taux du glucose sanguin, une diminution du glycogène hépatique ou une inhibition de la fermentation lactique.
- ▶ Les AINS diminuent l'intensité de la synthèse des lipides ainsi que leur accumulation dans les tissus enflammés.
- ▶ Les AINS diminuent les activités enzymatiques :
  - en réduisant l'incorporation de la thymidine dans l'ADN et l'uridine dans l'ARN de nombreuses cellules (lymphoïdes et épithéliales )
  - en modifiant le rapport tryptophane libre / tryptophane lié aux protéines, ils provoquent un découplage de la phosphorylation oxydative.

Tous les AINS inhibent sans spécificité la synthèse des prostaglandines ce qui explique certaines propriétés thérapeutiques. Cependant il est probable que l'effet de ces médicaments sur la synthèse des prostaglandines soit l'un de leurs mécanismes d'action très importants sur les nombreux phénomènes biologiques, son inhibition non discriminative par les AINS peut compter autant d'effets bénéfiques qu'indésirables.

#### **2.1.4.3.7.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) :Glucocorticoïdes**

Les glucocorticoïdes sont utilisés soit à titre substitutif pour suppléer une déficience surrénalienne, soit à dose pharmacologique où leurs propriétés anti-inflammatoires

immunosuppressives sont recherchées. Les glucocorticoïdes sont des stéroïdes et comme toutes les molécules de cette famille, ils agissent en se liant à des récepteurs ou en partie à l'albumine. La présence d'un hydroxyle en fonction 11  $\beta$  est essentielle pour l'activité glucocorticoïde. Les glucocorticoïdes sont peu solubles dans l'eau. Ils inhibent fortement la réaction inflammatoire précoce et ses manifestations cliniques bien connues d'où leur grand succès en thérapeutique (Neuwinger, 1996).

#### **2.1.4.4. Méthodes de tests anti-inflammatoires**

##### **► Œdème à la carraghénine sur rats surrenalectomisés**

###### **Principe :**

Contrôler si l'action anti-inflammatoire des substances non stéroïdiques est bien due à une activité propre et non à une sécrétion de corticoïdes à partir des surrénales.

##### **► Œdème par traumatisme expérimental selon Riester et Jacques**

###### **Principe :**

Réduire un œdème de patte, par traumatisme expérimental, par les anti-inflammatoires comme précédemment indiqué.

##### **► Tourniquets poditifs**

###### **Principe :**

Réduire l'œdème provoqué chez le rat, par ligature de l'articulation tibio-tarsienne, par les anti-inflammatoires.

##### **► Abcès à la Carraghénine**

###### **Principe :**

Réduire un abcès provoqué chez le rat, par injection sous-cutanée de la carraghénine, par des substances anti-inflammatoires.

##### **► Arthrite de FREUD**

###### **Principe :**

Réduire l'arthrite chronique provoquée au niveau de la patte du rat, par l'injection de *Mycobacterium butyricum* par certaines substances anti-inflammatoires.

### ► Technique de l'effusion pleurale

#### Principe :

Réduire l'épanchement pleural, provoqué par l'injection intra-pleurale d'un agent irritant, à l'aide de substances anti-inflammatoires.

### ► L'inflammation locale de l'oreille

#### Principe :

L'inflammation de l'oreille de rat, provoquée par l'application locale d'huile de croton peut être réduite par l'application locale de substances anti-inflammatoires (Rainsford, 1984).

### ► Œdème à la carraghénine

#### Principe :

Réduire, par des substance anti-inflammatoires, l'œdème provoqué chez les souris par l'injection intra-plantaire de la carraghénine.

C'est cette technique que nous avons utilisée dans notre méthodologie pour déterminer l'activité anti-inflammatoire

## 2.1.4.5. Quelques plantes à activité anti-inflammatoire

**TABLEAU III :** QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE CONNUES

<b>Nom scientifique</b>	<b>Famille</b>	<b>Parties utilisées</b>
<i>Annona senegalensis</i> Pers.	<i>Annonaceae</i>	Racines et feuilles
<i>Biophytum petersianum</i> Klotz.	<i>Oxalidaceae</i>	Plante entière
<i>Cola nitida</i> (Vent), Shlott.	<i>Sterculiaceae</i>	Coques
<i>Combretum nigricans</i> Lepr.	<i>Combretaceae</i>	Feuilles
<i>Datura inoxia</i> Mill.	<i>Solanaceae</i>	Feuilles
<i>Securidaca longipedunculata</i> Fres.	<i>Polygalaceae</i>	Racines
<i>Tamarindus indica</i> L.	<i>Caesalpiniaceae</i>	Rameaux feuillés

## 2.1.5. LES ANTIFONGIQUES

### 2.1.5.1. Généralités

La pathologie fongique a connu une progression au cours de ces dernières années compte tenu de l'augmentation des localisations mycosiques profondes, viscérales et septicémiques. Les premières sont dues à des champignons très répandus dans la nature, habituellement saprophytes, ne devenant pathogènes que dans certaines conditions :

- usage croissant des antibiotiques à large spectre
- corticothérapie
- thérapeutiques immunosuppressives
- greffes
- patients atteints du sida ; on parle de mycoses iatrogènes. Elles sont causées par des champignons dits opportunistes qui sont soit lévuriformes (*Candida*, *Cryptococcus*), soit filamenteux (*Aspergillus*, *Cephalosporum*).

Les secondes sont dues à des champignons pathogènes se développant dans des pays chauds et qui sont importés à la faveur de l'extension du tourisme et des brassages de populations. Ces mycoses exotiques sont l'histoplasmosse, les blastomycoses et les mycétomes. Si le traitement des mycoses superficielles cutanées ou muqueuses ne présente plus de réelles difficultés, il en est tout autrement pour les mycoses profondes; celles-ci présentent toujours un caractère de gravité et sont rapidement évolutives, car elles surviennent sur un terrain affaibli ou immunodéprimé.

La composition de la paroi cellulaire, très épaisse du matériel qui l'entoure et de la membrane cytoplasmique, joue un rôle considérable dans la perméabilité de la cellule.

Le développement des antifongiques se heurte à trois obstacles :

- une faible activité fongicide *in vivo* en regard des résultats *in vitro*
- une mauvaise diffusion à travers la paroi très épaisse des champignons du fait de sa composition (chitine, phospholipides, et stérols); ces constituants sont absents chez les bactéries, ce qui explique que la plupart des antibiotiques antibactériens ne soient pas des antifongiques. Les substances antifongiques doivent de ce fait présenter une hydrophobie élevée.

## 2.1.5.2. Classification des mycoses

### ► Mycoses exclusivement superficielles

Ce sont les mycoses à tropisme exclusivement cutané.

On distingue les dermatophytoses (dermatophyties) :

- de la peau glabre : herpès circiné
- des plis (intertrigos) eczéma marginé de Hébra (face intérieure des cuisses), "pied d'athlète"
- des zones pileuses : sycosis (barbe)
- des ongles : onychomycoses ou onyxis (ongles des mains et des pieds)

*Pityriasis versicolor* :

Cette mycose due à *Malassezia* se traduit par l'apparition de taches pigmentées et squameuses.

### ► Mycoses cutanéomuqueuses

Elles sont essentiellement causées par les espèces du genre *Candida*. On distingue des :

- **Candidoses oropharyngées et digestives**

les atteintes buccales sont les plus importantes; elles se traduisent par un muguet, souvent associé à une glossite.

- **Candidoses génitales**

Il s'agit de balanite chez l'homme et de vulvovaginite chez la femme. Les facteurs favorisants sont nombreux : diabète, grossesse, contraception orale; la transmission peut se faire également par la voie vénérienne.

- **Candidoses cutanées**

Chaleur et macération sont les conditions favorables à l'extension cutanée de ces mycoses (intertrigo des grands plis cutanés, ou des espaces interdigitaux, périonyxis et onyxis candidosiques)

### ► Mycoses profondes

Quatre grands groupes de mycoses profondes peuvent être individualisées :

- **Candidoses disséminées** :

l'agent responsable est *Candida albicans*. Les localisations sont nombreuses : oculaires, ostéoarticulaires, cardiaques, urinaires, pulmonaires, cérébrales ou septicémiques.

- **Aspergilloses :**

La plus répandue des mycoses pulmonaires. Le champignon responsable est *Aspergillus fumigatus* qui possèdent des spores aériennes pouvant être inhalées.

- **Cryptococcoses:**

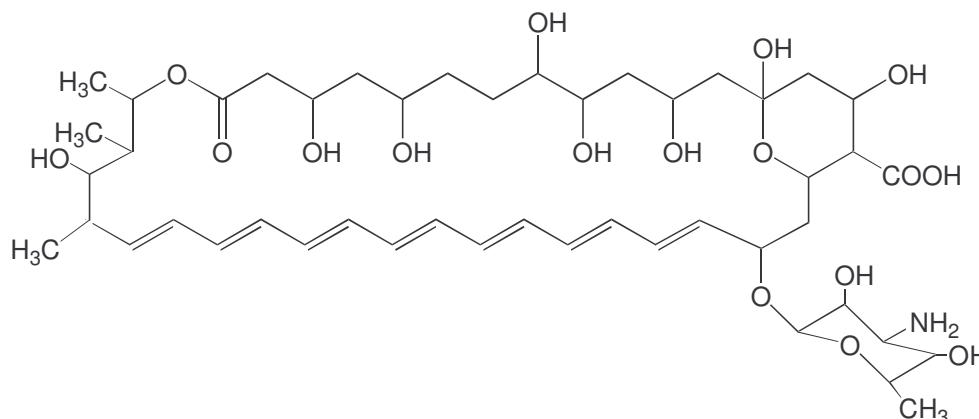
L'agent responsable est *Cryptococcus neoformans*. La dissémination se fait à partir du foyer pulmonaire, par voie hématogène et aboutit à un envahissement méningé. La cryptococcose neuroméningée représente environ 10% des infections observées chez les malades atteints du sida (Talbert *et al.*, 2001).

### 2.1.5.3. ANTIFONGIQUES CONVENTIONNELS

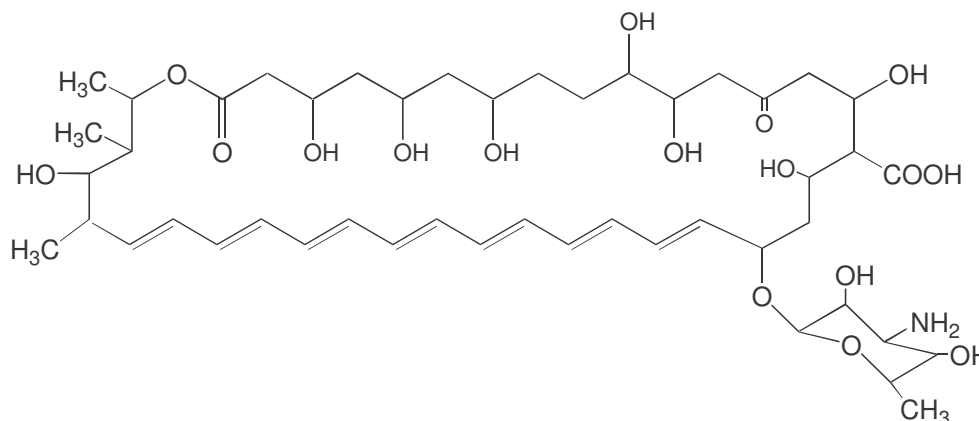
#### 2.1.5.3.1 Structures et mode d'action des antifongiques

##### 2.1.5.3.1.1. Nystatine et Amphotéricine B

Ils possèdent le même sucre amine : la mycosamine qui est liée à un grand cycle lactone contenant des groupements polyéniques.



Amphotericine B (Fungizone®)



Nystatine (Mycostatine®)

### **Mode d'action :**

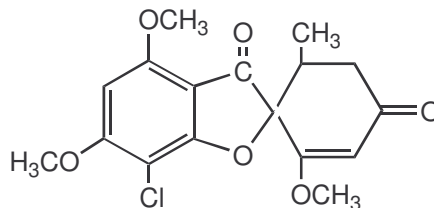
Les polyènes ont à la fois une activité fongistatique et fongicide. L'activité antifongique est dépendante de la concentration des éléments fongiques, du temps de contact avec l'antifongique, du pH du milieu et de la température ambiante.

A pH acide, la nystatine et l'amphotéricine sont rapidement absorbées en grande quantité par les levures qu'à pH neutre ou alcalin. Le mode d'action relève de divers mécanismes dont la formation de complexes insolubles avec les stérols de la membrane cellulaire aboutissant à des troubles de la perméabilité cellulaire et entraînant la mort des cellules.

### **2.1.5.3.1.2. La griséofulvine**

#### **Mode d'action :**

Elle inhibe à des doses fongicides la synthèse des acides nucléiques. Elle affecte la mitose cellulaire (arrêt de la métaphase). Son action fongistatique est responsable de l'altération de la paroi fongique s'accompagnant d'anomalies de développement des hyphes terminaux qui s'élargissent, s'épaississent et s'enroulent.

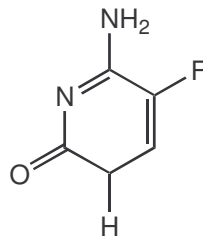


Griséofulvine (Griséofuline®)

### **2.1.5.3.1.3. La flucytosine**

#### **Mode d'action :**

C'est un anti-métabolique de la cystine, certains champignons ont une cytosine perméase nécessaire à la traversée de leur membrane cellulaire et d'autres bases pyrimidiques et puriques. Une cytosine désaminase transforme la flucytosine en fluoro 5-uridine, puis phosphorylée en flucytosine triphosphate. Cette dernière, incorporée à l'ARN, bloque la synthèse des protéines indispensables à la vie cellulaire fongique. Les cellules humaines ne possèdent pas la désaminase.

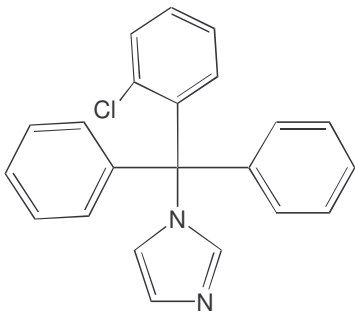


Flucytosine (Ancotil®)

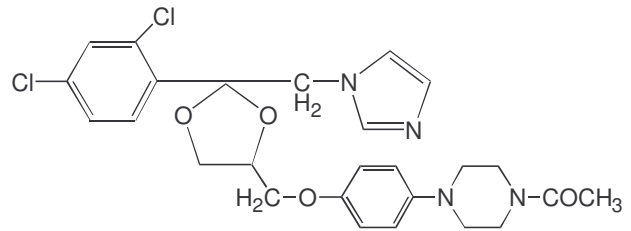
#### 2.1.5.3.1.4. Dérivés imidazolés

##### Mode d'action :

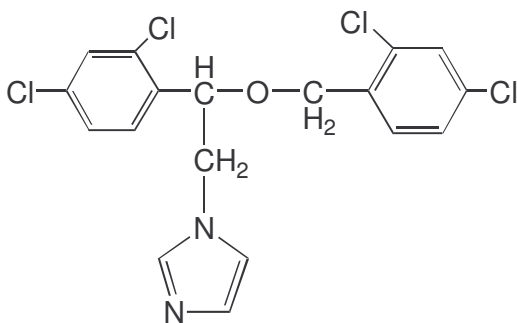
Il est basé sur l'altération de la structure de la paroi fongique et de la perméabilité de la membrane cytoplasmique avec blocage de stéroïdes et sur l'inhibition de la synthèse des protéines.



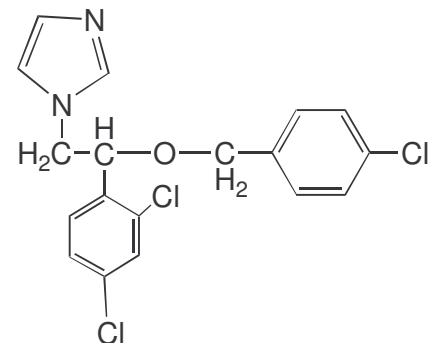
Clotrimazole



Kétoconazole



Miconazole (Daktarin®)



Econazole (Pevaryl®)



#### **2.1.5.4. Méthodes de tests antifongiques**

##### **2.1.5.4.1 Méthode par dilution en milieu liquide**

**Principe** : Incuber un milieu de culture avec une dilution de doses croissantes des solutions à tester. L'activité antifongique se traduit par l'inhibition et l'absence de culture visible dans les tubes (Sanou, 1997).

##### **2.1.5.4.2. Méthode de diffusion**

**Principe** : détermination de l'activité antifongique d'un extrait sur un milieu de culture à travers des cylindres ou des disques contenant les solutions à titrer. Il se forment des zones circulaires sur le fond opaque du milieu de culture (Chevalley, 2000).

##### **2.1.5.4.3. Méthode Biautographique**

**Principe** : détection de l'activité antifongique d'une substance par inhibition d'un milieu de culture de *Candida albicans* versé sur une plaque CCM (Diallo, 2000).

Nous avons utilisé cette technique dans notre méthodologie pour déterminer l'activité antifongique.

#### **2.1.5.5. Quelques plantes à activité antifongique**

**TABLEAU IV** : PLANTES A ACTIVITE FONGICIDE CONNUE

<b>Nom scientifique</b>	<b>Famille</b>	<b>Parties utilisées</b>	<b>Références</b>
<i>Diospyros abyssinica</i> Hiern.	<i>Ebenaceae</i>	Racines	Diallo, 2000
<i>Glinus oppositifolius</i> L. ADC.	<i>Aizoaceae</i>	Parties aériennes	--
<i>Parkia biglobosa</i> K.	<i>Mimosaceae</i>	Écorce du tronc	Kerharo, 1979
<i>Stylosanthes micronata</i> F.	<i>Fabaceae</i>	Plante entière	--
<i>Swartzia madagascariensis</i> D.	<i>Leguminosae</i>	Racine	Schaller, 1999
<i>Ximenia americana</i> Min.	<i>Oleraceae</i>	Racine	--

### 2.1.6.

## **FAGARA ZANTHOXYLOIDES**

*Fagara zanthoxyloïdes*, connu sous le nom vernaculaire de Wô au Mali, appartient à la famille des *Rutacées*.

Les Rutacées sont des plantes souvent ligneuses possédant des poches sécrétrices. Cette famille compte plus de 700 espèces en grande partie, arborescentes et appartenant aux pays tropicaux.

Suivant les variations de l'ovaire et du fruit, les Rutacées se divisent en 3 sous-familles :

- Les Rutoïdées
- Les Toddalioïdées
- Les Aurantinoïdées

Le genre *Zanthoxyloïdes* appartient à la sous famille des Rutoïdées .

### 2.1.6.1. **Position dans la systématique :**

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	Rutalées
Famille	<i>Rutacées</i>
Genre	<i>Fagara</i> ou <i>Xanthozylum</i>
Espèce	<i>zanthoxyloïdes</i>

### 2.1.6.2. **Synonymes :**

- *Fagara zanthoxyloïdes* Lam.
- *Fagara senegalensis* (DC) A. Chev.
- *Zanthoxylum senegalense* (DC). A. Chev.
- *Zanthoxylum polyganum* Schum.
- *Zanthoxylum zanthoxyloïdes* Waterm.

### **2.1.6.3. Description botanique :**

*Fagara zanthoxyloïdes* Lam. est un petit arbre de 5 à 6 m de hauteur. Les rameaux sont très armés avec des aiguillons très recourbés et aigus, en forme de griffes, petits ou atteignant jusqu'à 1 mètre de longueur. Le rachis et parfois la nervure médiane portent de grosses épines recourbées.

Les feuilles sont alternes, composées et imparipennées avec une pétiole de 2 à 5 cm de rachis plus ou moins cylindriques ou aplatis, canaliculés, garnis d'aiguillons. Elles comprennent 5 à 9 paires de folioles glabres opposées, sub-opposée ou alternes atteignant 6 cm ; une limbe aiguë à la base, de consistance coriace avec marge rebordée au dessus; nervure médiane déprimée au dessus, fortement saillante au dessous, garnie très souvent d'aiguillons sur les 2 faces.

Les fleurs mâles possèdent 5 étamines et un pistil rudimentaire, fusiforme. Les fleurs femelles, avec un disque cylindrique peu élevé, supportent un carpelle globuleux (plus ou moins 0,8 mm) avec un style latéral courbé et un stigmate capité.

Les fruits, de la grosseur d'un pois, sont des capsules s'ouvrant par deux valves et contenant une seule graine d'un beau noir brillant.

Les tiges se présentent sous forme de fragments cylindriques de 3 à 5 cm de diamètre.

Le bois est jaune clair ( d'où le nom de *Xanthoxylum*) et très dur.

L'écorce, relativement mince de 2 à 3 mm, d'un brun légèrement violacé, est assez lisse et de saveur amère ; sa mastication entraîne un picotement de la langue et un accroissement de la salivation.

Les racines mesurent 2 à 4 cm de diamètre ; le bois jaune, à une texture compacte et l'écorce peu épaisse (1 à 2 mm) se détache facilement ; la surface externe, brun clair, striée longitudinalement, sillonnée transversalement, présente des tâches jaunes vives.

La saveur, plus intense que celle de la tige, est aromatique, amère et poivrée.

### **2.1.6.4. Habitat et distribution géographique**

Espèce des savanes pré-forestières et des fourrés littoraux, répandue en Afrique tropicale dans l'aire des massifs forestiers guinéo-congolais, *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. est connu au Ghana, au Mali, en Cote d'ivoire, au Nigeria, au Sénégal, au Togo et au Bénin.

Il pousse spontanément en Afrique et de préférence dans les sols frais et humides.

### 2.1.6.5. Noms locaux :

**TABLEAU V :** NOMS VERNACULAIRES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* SELON LES PAYS  
(ADJANOUEHOU ET COLL, 1986)

<b>Pays</b>	<b>Ethnies / Dialectes</b>	<b>Appellations</b>
Bénin	Fon Goun Yoruba	Hê Hê Igui ata
Centrafrique	Babinga pygmées, Sango Gbaya Mbimo	Bolongo Nzototo Akumbo
Congo	Lingala Mbaamba, Ndassa Vili, Ndulu	Balongo Mbulula Ndungu
Mali	Bambara Malinké Peulh	Wo ; gozo-nguia Wo Bulébarkélé ; barkéley
Niger	Haoussa	Fasakwari
Nigeria	Yoruba Ibo ( igbo)	Igui ata ; ata ukoh
Sénégal	Wolof Socè Niom Séréré	Dengidek, nden Samatimo Inok noc
Togo	Akassélem Akposso Moba Tem	Bidjakogoro Owlawu Djomédiaq Abalatchang' aï

## **1.6. USAGES EN MEDECINE TRADITIONNELLE**

### **A. Appareil cardiovasculaire**

#### **▶ Angine pharyngite**

**Drogue** : racine fraîche ou sèche

**Préparation** : décoction aqueuse d'une botte de racines (100 à 200 grammes de racines pour environ 2 litres d'eau).

**Mode d'emploi et posologie** : le décocté aqueux bouillant est utilisé en bains de vapeurs ; tiédi, il s'emploie en bains de bouche répétés.

Source : Mali (Adjanooun *et Coll.* 1985)

#### **▶ Hémorroïdes**

**Drogue** : racine fraîche ou sèche

**Préparation** : décoction aqueuse d'une botte de racines

**Mode d'emploi et posologie** : faire des bains de siège avec le décocté chaud.

Source : Bénin (Adjanooun *et Coll.* 1986)

### **B. Appareil digestif**

#### **▶ Diarrhée**

**Drogue** : feuille et racine fraîches

**Mode d'emploi et posologie** : les thérapeutes traditionnels sénégalais proposent la décoction des feuilles et des racines pour le traitement des diarrhées.

Source : Sénégal (Kerharo et Adams, 1974).

#### **▶ Douleur abdominale**

**Drogue** : écorces de racines sèches

**Préparation** : réduire en poudre l'écorce séchée de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam et les gousses de *Aframomum melegueta* K. Schum., séparément.

**Mode d'emploi et posologie** : mélanger les quantités égales des deux poudres puis délayer une cuillère à café du mélange dans de l'eau chaude. Utilisation une fois par jour.

Source : Togo (Adjanooun *et Coll.* 1986)

#### **▶ Gastro-entérites**

**Drogue** : écorces de racines

**Mode d'emploi et posologie** : les feuilles et les racines sont réputées efficaces dans le traitement des gastro-entérites.

Source : Sénégal (Kerharo et Adams, 1974)

► **Ictères**

**Drogue** : racine sèche

**Préparation** : piler les racines séchées de la plante avec des écorces de tiges de *Ostryoderris stuhlmanii* (Taub). Dunn ex Harm. des bulbes d'oignons (*Allium cepa* L.) et du poivre (*Piper guineense* Schum. Et Thonn.)

**Mode d'emploi et posologie** : ajouter chaque jour une cuillère à café de la poudre obtenue à la sauce des repas de midi et du soir.

Source : Bénin (Adjanooun et Coll. 1986)

► **Parasitoses intestinales**

**Drogue** : écorce de racine

**Mode d'emploi et posologie** : La décoction de la poudre des écorces des tiges et des racines est réputée vermifuge.

Source : Sénégal (Kerharo et Adams, 1974).

**C. Appareil génital féminin**

► **Gynécologie**

• **Leucorrhée**

**Drogue** : feuille fraîche

**Préparation** : triturer des feuilles fraîches dans de l'eau. Laisser macérer environ une heure puis filtrer.

**Mode et posologie d'emploi** : boire le filtrat seul ou mélangé à de l'akassa (pâte alimentaire).

Source : Bénin (Adjanooun et Coll. 1986)

• **Aménorrhées**

**Drogue** : racine sèche

**Préparation** : piler les racines de la plante avec les écorces séchées des tiges de *Ostryoderris stuhlmanii* (Taub). Dunn ex Harm., des bulbes d'oignons (*Allium cepa* L.) et du poivre (*Piper guineense* Schum. Et Thonn.) .

**Mode d'emploi et posologie** : ajouter une cuillère à café de la poudre obtenue à la sauce des repas du malade. Durée du traitement : 1 mois.

Source : Bénin (Adjanooun et Coll. 1986).

► **Obstétrique** (suite de couches pathologiques)

**Drogue** : racine sèche

**Préparation** : les racines de la plante associées à celles de *Flacourtia flavescens* Willd. sont réduites en poudre.

**Mode d'emploi et posologie** : prendre une fois par jour une pincée de poudre délayée dans un demi-verre d'eau.

Source : Bénin (Adjanooun *et Coll.* 1986).

**D. Appareil génital et urinaire de l'homme**

► **Blennorragie**

**Drogue** : écorce de tige

**Préparation** : macération aqueuse des écorces de tige ou de la tige entière.

**Mode d'emploi et posologie** : donner à boire au malade le macéré aqueux additionné du jus de citron.

Source : Côte d'Ivoire (Adjanooun *et Coll.* 1979).

► **Urérite**

**Drogue** : feuille et racine

**Mode d'emploi et posologie** : La décoction des feuilles et des racines sont signalées efficaces pour le traitement des urétrites.

Source : Sénégal (Kerharo *et Adams*, 1974)

**E. Appareil locomoteur**

► **Courbature**

**Drogue** : racine fraîche ou sèche

**Préparation** : mettre dans un canari une botte de racines de chacune des plantes suivantes : *Fagara zanthoxyloïdes* Lam., *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, *Nauclea latifolia* Sm., *Rhaphiostylis beninensis* (Hook.f. ex Planch) Planch.ex Benth., *Voacanga africana* Stapf. Ajouter une botte d'écorces de tige de *Antiaris africana* Engl. et de *Bridelia ferruginea* Benth. et 3 litres d'eau pour une décoction d'une heure environ .

**Mode d'emploi et posologie** : le décocté aqueux filtré au travers d'un linge est utilisé par voie orale à raison de 75 à 150 ml, deux fois par jour pendant cinq jours.

Source : Bénin (Adjanooun *et Coll.* 1986 ).

## **F. Nez – Bouche – Gorge – Oreille**

### **▶ Carie dentaire**

**Drogue** : racine fraîche ou sèche

**Préparation** : pulvériser les racines séchées ou réaliser une décoction aqueuse avec les racines fraîches ou séchées.

**Mode d'emploi et posologie** : appliquer une fois par jour la poudre d'écorces de racines sur la dent cariée ou boire le décocté de la poudre au moment des douleurs.

Source : Bénin (Adjanooun *et Coll.* 1986).

### **▶ Gingivites – Odontalgie**

**Drogue** : écorces de racines

**Mode d'emploi et posologie** : mâcher les écorces de racines et faire des gargarismes avec l'extrait.

Source : Côte d' Ivoire (Adjanooun *et Coll.* 1979) ; Sénégal (Kerharo et Adams, 1974)

**Drogue** : racine de tige

**Mode d'emploi et posologie** : l'usage, comme cure dent, de la tige ou de la racine a été maintes fois signalé.

Source : Bénin (Adjanooun *et Coll.* 1986) ; Mali (Adjanooun *et Coll.* 1985).

## **G. Peau**

### **▶ Abcès**

**Drogue** : racine

**Préparation** : réaliser un décocté aqueux avec les racines de la plante associées avec celles de *Baissea zygodlioides* et de *Uvaria chamae* Pal. Beauv.

**Mode d'emploi et posologie** : boire une cuillère du décocté, 3 fois par jour.

Source : Bénin (Adjanooun *et Coll.* 1986)

### **▶ Gale**

**Drogue** : écorce de racine

**Préparation** : réduire l'écorce de la racine en poudre. Ajouter l'huile de palme.

**Mode d'emploi et posologie** : appliquer le mélange sur tout le corps.

Source : Congo (Adjanooun *et Coll.* 1985)



### ► **Plaies chroniques**

**Drogue** : feuilles, écorces de racines.

**Préparation** : mélanger les feuilles et les écorces de racines de la plante (500 g environ ). Faire bouillir le mélange dans 3 litres d'eau jusqu'à ce que le volume soit ramené à 1 litre. Laisser refroidir.

**Mode d'emploi et posologie** : laver, chaque jour, la plaie avec le décocté.

Source : Togo (Adjanohoun *et Coll.* 1986).

### H. **Symptômes particuliers**

#### ► **Céphalalgies**

**Drogue** : feuille ; écorce de tige et de racine

**Préparation** : fractionner et froisser les feuilles, écorces de tige et de racines fraîches.

**Mode d'emploi et posologie** : applications locales sur le front et la tête.

Source : Sénégal (Kerharo et Adams, 1974)

#### ► **Oedèmes**

**Drogue** : racine

**Préparation** : décoction de 15 à 20 grammes de racines dans un quart de litre d'eau.

**Mode d'emploi et posologie** : boire une cuillère à café de décocté 2 fois par jour ( le matin à jeun et le soir).

Source : Togo (Adjanohoun *et Coll.* 1986).

### I. **Maladies et indications particulières**

#### ► **Drépanocytose**

**Drogue** : écorce de racine

**Préparation** : pulvériser les écorces sèches de racines de la plante seules ou associées soit aux feuilles et racines sèches de *Flacourtia flavescens* Willd. ou de *Uvaria chamae* Pal. Beauv., soit aux tiges feuillées séchées de *Hibiscus surratensis* L.

**Mode d'emploi et posologie** : ajouter une petite cuillère de la poudre d'écorces obtenue aux repas du malade matin, midi, soir.

Source : Bénin (Adjanohoun *et Coll.* 1986) , Togo (Adjanohoun *et Coll.* 1986)

**Drogue** : racine

**Préparation** : décoction aqueuse des racines de la plante associées à celles de *Newbouldia laevis* (P. Beauv ) Seemann.

**Mode d'emploi et posologie** : boire une cuillère à café du décocté 3 fois par jour.

**Drogue** : racine

**Préparation** : sécher 200 g environ de racines ( 3 jours à l'air libre ). Macération aqueuse pendant 24 heures dans 5 litres d'eau.

**Mode d'emploi et posologie** : boire 2 cuillères à café du macéré une fois par jour

Source : Bénin (*Adjanohoun et Coll.* 1986).

**Drogue** : tige feuillée fraîche

**Préparation** : aqueuse de la tige feuillée : 100 g environ pour 1 litre d'eau .

**Mode d'emploi et posologie** : boire une cuillère à café du macéré, une fois par jour .

Source : Bénin (*Adjanohoun et Coll.* 1986).

► **Envenimation** (morsure de serpent)

**Drogue** : racine

**Mode d'emploi et posologie** : les préparation de racines sont prescrites en usage externe dans les envenimations par morsure de serpent

Source : Sénégal (*Kerharo et Adams*, 1974)

► **Poison de pêche**

**Drogue** : racine

L'activité ichtyotoxique des racines a été signalée.

Source : Congo (*Adjanohoun et Coll.* 1985).

## 2.1.6.7. COMPOSITION CHIMIQUE DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

### 2.1.6.7.1. Constituants chimiques des feuilles

**TABLEAU VI** : CONSTITUANTS CHIMIQUES ISOLEES DES FEUILLES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

Groupe des substances	Substances isolées	Références
Huile essentielle	Dipenthène	Stamm (1984)
	Linalol	II
	Methylnonycétone	II
Coumarine	Bergaptène	Stamm (1984)

### 2.1.6.7.2. Constituants chimiques des tiges

**TABLEAU VII** : CONSTITUANTS CHIMIQUES ISOLEES DES TIGES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

Groupe des substances	Substances isolées	Références
Gomme	Arabinose	Stamm (1984)
	Galactose	II
	Acide 4-méthylglucuronique	II
	Acide aldobionique	Torto (1966)

### 2.1.6.7.3 Constituants chimiques des fruits

**TABLEAU VIII** : CONSTITUANTS CHIMIQUES ISOLEES DES FRUITS DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

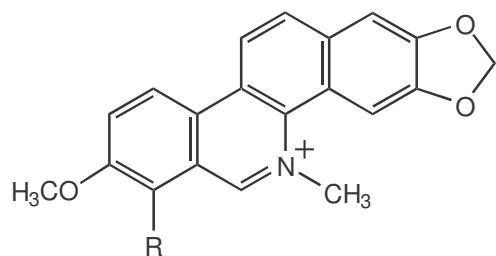
Groupe des substances	Substances isolées	Références
Huile essentielle	Methylnonylcétone	Stamm (1984)
	Linalol	II
	Ester caprique	II
	Ester acétique	II
	Sesquiterpènes	II
Coumarine	Xanthotoxine	Kerharo (1979)

#### 2.1.6.7.4 Constituants chimiques des racines

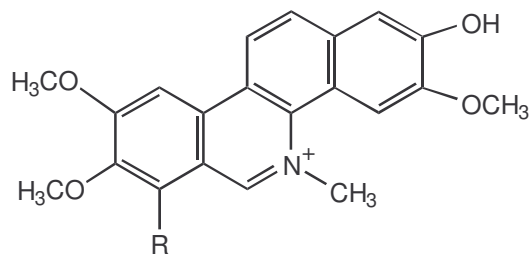
**TABLEAU IX** : CONSTITUANTS CHIMIQUES ISOLEES DES RACINES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

Groupe de substances	Substances isolées	Références
Alcaloïde	3-dimethylallyl 4-methoxy-2-quinone	Stamm (1984)
	skimmianine	Paris (1947)
	Berbérine	Hegnauer
	Chélérithrine	II
	Artarine ( 9-ethoxychélerithrine)	Paris (1947)
	Angoline ( 9-methoxychélerithrine)	Palmer (1956)
	Fagaronine	Messmer (1972)
	Magnoflorine	II
	N-methylcorydine	II
	N-methylisocoydine	II
	Tembétarine	II
Candine-6-one	Sofowara (1979)	
Lignane	Fagarol	Thoms (1911)
	Sésamines	Kerharo (1973)
Phénol	Xanthoxylol	Eshiet (1966)
Amide	N-iso-butyldécadiennamide	Bowden (1963)
Acide phénol	Acide 2-hydroxyméthylbenzoïque	Sofowara (1979)
	Acide vanillique	II
	Acide para hydroxybenzoïque	II

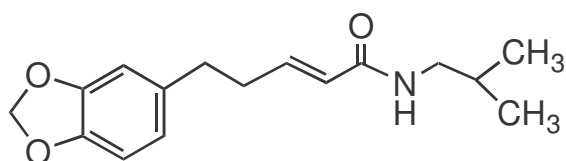
**2.1.6.7.5 Structures chimiques des composés de *Fagara zanthoxyloides***  
( Harborne et Baxter, 1993)



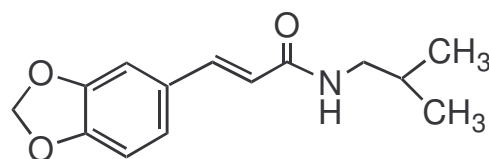
Fagaridine      R = OH  
Chelerytrine    R = OCH<sub>3</sub>



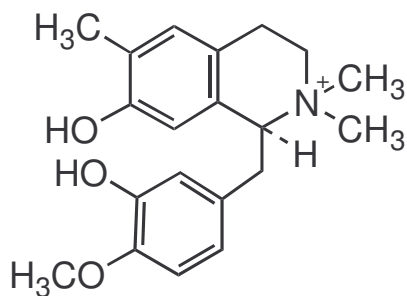
Fagaronine



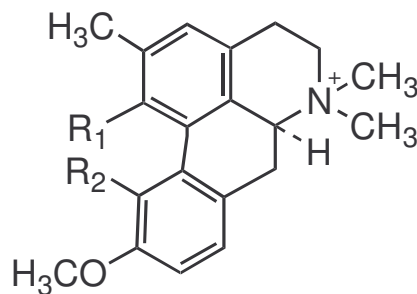
4-5 Dihydropiperlongumine



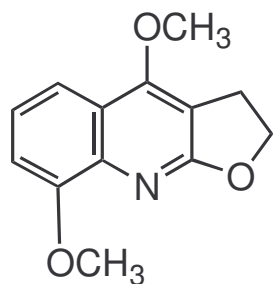
Fagaramide



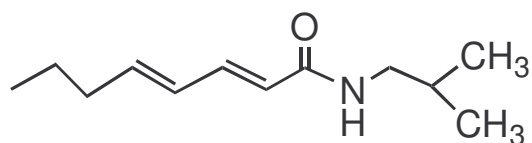
Tembetarine



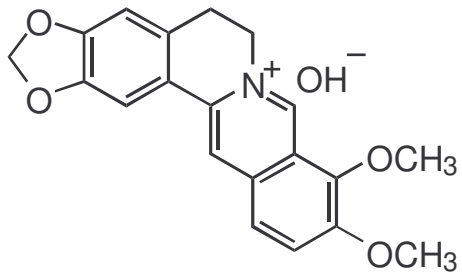
Magnoflorine:      R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH  
N-methylcorydine :    R<sub>1</sub> = OH    R<sub>2</sub> = OMe



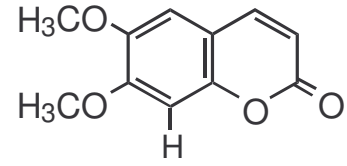
Fagarine = 8 methoxydictamine



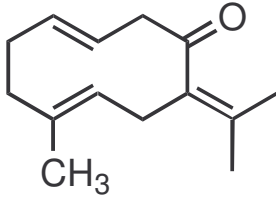
N-isobutyl - 2E, 4E - octadienamide



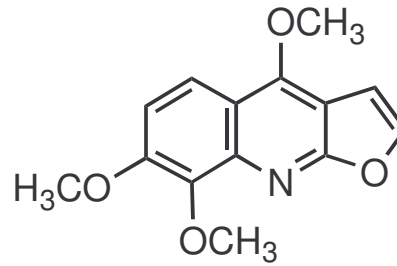
Berberine



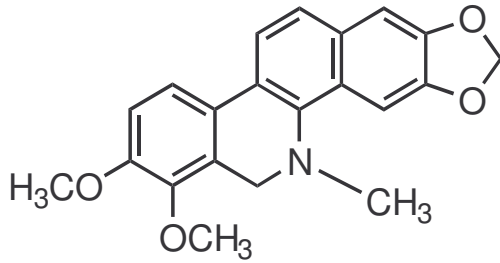
6,7 - Dimethoxycoumarin



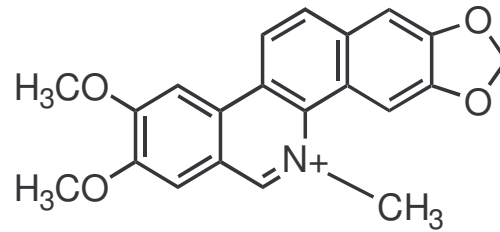
Germacrone



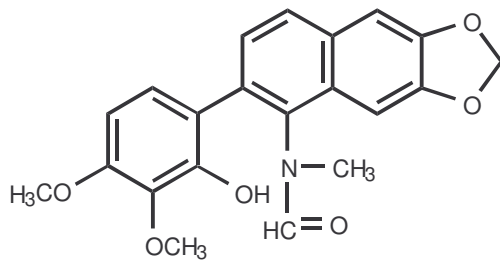
$\alpha$ -fagarine = Skimmianine



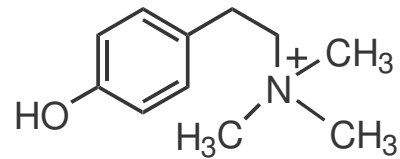
Dihydrochelerythrine



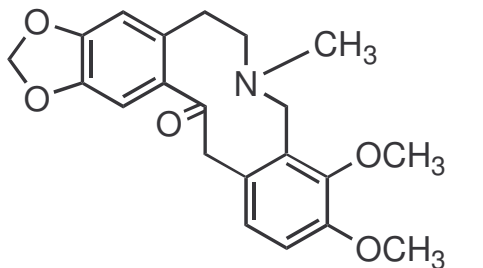
Nitidine



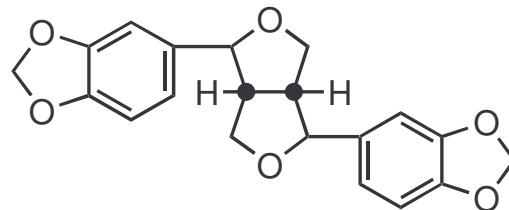
Arnottianamide



Candicine



$\alpha$ -fagarine = Allocryptopine



(+) Sesamine

### 2.1.6.8. Réactions phytochimiques de *Fagara zanthoxyloides*

**TABLEAU X** : RESULTATS DES TESTS PHYTOCHIMIQUES SUR LES ECORCES DE RACINES DE  
*FAGARA ZANTHOXYLOIDES* (BAGAYOKO, 2001)

<i>Fagara zanthoxyloides</i> Lam		
Recherches	Résultats	Interprétation
Hétérosides cyanogénétiques (papier picrosodé)	Aucun	Test négatif
Coumarines (fluorescence UV 366 nm)	Fluorescence verte	+++
Caroténoïdes (Carr et Price)	Brunâtre	+
Antracénosides combinés libres (Borntrager)	Aucun	Test négatif
Antracénosides combinés C- hétérosides	Aucun	Test négatif
Antracénosides O-hétérosides ( Borntrager)	Aucun	Test négatif
Flavonoïdes : Génines flavoniques (Shibata)	Orangée	++
Alcaloïdes base (Bouchardad – Mayer - Dragendorff)	Précipités abondants	+++++
Alcaloïdes sel (Bouchardad-Mayer- Dragendorff)	Précipités abondants	+++++
Saponosides : mousse	Aucun	Test négatif
Tanins : réaction avec le chlorure ferrique	Noirâtre	++
Tanins : réaction avec l'acide chlorhydrique	Précipités solubles dans l'alcool isoamylique	++
Tanins catéchiques : réaction de Stiasny	Précipités solubles dans l'alcool iso amylique	++
Tanins Galliques : réaction de Stiasny	Verte	++
Composés réducteurs	Rouge brique	+++
Oses et holosides	Rouge	+++
Polyuronides ( Mucilages)	Flocons blancs	+++++
Stérols et Triterpènes : Hétérosides triterpeniques (Liebermann)	Anneau rouge brunâtre, surnageant vert	++++
Stérols et Triterpènes : Stéroïdes (Liebermann)	Anneau rouge brunâtre, surnageant vert	++++
Hétérosides cardiotoniques (Raymond – Marthoud )	Violet fugace	+++
Hétérosides cardiotoniques ( Keede )	Rouge violacée	+++
Hétérosides cardiotoniques ( Baljet )	Orangée	+++
Anthocyanes	Aucun	Test négatif
Leucoanthocyanes	Brun rouge	++
Stupéfiants ( Tétrahydrocannabinol )	Aucun	Test négatif
Alcaloïdes des Solanacées mydriatiques	Aucun	Test négatif

### 2.1.6.9. DOSAGES

**TABLEAU XI** : TABLEAU RECAPITULATIF DES DOSAGES CHIMIQUES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* ( BAGAYOKO, 2001)

Recherches	Résultats
Substances extractibles par l'eau ( 1 gramme )	29%
Substances extractibles par l'éther	4,60%
Substances extractibles par l'éthanol absolu	7%
% d'eau par la méthode gravimétrique	5%
% d'eau par la méthode azéotropique	6%
Cendres totales	6,70%
Cendres insolubles dans l'acide sulfurique 50%	10,90
Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10%	2,70%
Alcaloïdes	0,30%

### 2.1.6.10. Données pharmacologiques de *Fagara zanthoxyloïdes*

Les nombreuses études effectuées sur *Fagara zanthoxyloïdes* portent surtout sur l'activité antimicrobienne *in vitro* des différents extraits des racines (Metou *et al*, 1988).

C'est en examinant les propriétés antibactériennes d'un extrait de la plante sur un milieu de culture qui contenait du sang que le professeur Sofowara du Nigeria constata que le sang sur lequel il avait déposé l'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* restait rouge très longtemps. Il en a déduit que la plante devait empêcher l'hémolyse des hématies (Sofowara,1971).

Depuis, de nombreuses publications ont précisé l'action antirépanocytaire de la plante.

*Fagara zanthoxyloïdes* possède la propriété de redonner aux globules rouges leur forme ronde normale chez les malades drépanocytaires et de permettre un meilleur apport d'oxygène. A partir d'un extrait aqueux de racine de *Fagara zanthoxyloïdes* qui diminuait fortement le nombre de cellules falciformes, on a isolé l'acide hydroxy-2-méthyl-benzoïque, responsable de cette activité. Au Nigeria, le principe actif de la plante a été formulé sous forme de comprimés (Sofowara *et al.*, 1985)



Au Burkina faso, une étude pharmacologique comparative entre la Dihydroergotoxine Hydergine® d'une part, et l'association de poudres de *Fagara zanthoxyloïdes* et de *Colotropis procera* d'autre part a été réalisée chez les enfants en crise drépanocytaire. La poudre des deux plantes associées sous forme de gélules s'est révélée, *in vitro*, inhibitrice de la falciformation des globules rouges et *in vivo* sur la crise drépanocytaire (Guissou, 1990).

Au Mali, une étude clinique a été réalisée sur l'efficacité d'un extrait hydroalcoolique de *Fagara zanthoxyloïdes* comparée à celle du kétoprofène dans le traitement des crises vaso-occlusives chez les drépanocytaires.

L'extrait hydroalcoolique de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré un pouvoir inhibiteur de la falciformation des hématies, il est aussi bien toléré avec un taux de sédation des crises douloureuses de 70% (Diallo, 1998).

Une autre étude a été effectuée sur 50 malades, présentant une moyenne de 25 crises drépanocytaires douloureuses par mois : traités trois fois par jour par 5 ml d'une solution correspondant à 1 mg/ml d'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*, les crises disparaissaient complètement et l'hématocrite restait constant (Isaac-Sodoyé *et al.*, 1975).

Les alcaloïdes de *Fagara zanthoxyloïdes* possèdent en outre un nombre important d'activités physiologiques : antileucémique (Guissou, 1990), anticancéreuse et antivirale (Metou *et al.*, 1988).

**TABLEAU XII : TABLEAU RECAPITULATIF DES DONNEES PHARMACOLOGIQUES  
DE FAGARA ZANTHOXYLOIDES**

<b>Extrait</b>	<b>Méthodes de culture</b>	<b>Résultats</b>	<b>Référence</b>
Extrait aqueux de racine	Méthode des plaques striées sur la flore buccale	<i>F.z</i> présente des propriétés antibactériennes	El Saïd (1971)
Extrait aqueux de racine	Méthode des boîtes de pétri en cupules sur la flore buccale	Zone d'inhibition en mm : -Gélose au sang : 23 -Gélose nutritive : 23	Fadulu
Extrait aqueux de racine en fractions	Méthode des boîtes de pétri, en cupules sur la flore buccale	Activité antimicrobienne attribuée à 4 alcaloïdes : - Canthine-6-one - Chélérithrine	Odebiyi (1979)
Extrait aqueux de racine dissous dans TC 199	Action sur les hématies en suspension dans le TC 199 + Métabisulfite de Na	Mise en évidence d'hématies crénelées : 5% avec <i>F.z</i> et 70% sans <i>F.z</i> . Mise en évidence d'hématies falciformes 40% avec <i>F.z</i> et 95% sans <i>F.z</i> .	Sofowara (1971)
Extrait aqueux et fraction contenant l'acide 2 hydroxybenzoïque	Action sur les hématies à globine A et globine S en suspension dans le TC 199	Le taux des hématies falciformes diminue de 75% à 30% en présence de l'acide 2 hydroxybenzoïque	Sofowara (1971)
Extrait aqueux	Sang total des malades souffrant d'anémie + 25 mg d'extrait/ml	L'extrait s'est révélé n'avoir aucune influence sur la transformation des hématies falciformes.	Honing (1975)
Extrait éthéré	Sur sang total HbS + 2% de métabisulfite de Na	Diminution nette du taux d'hématies falciformes pour une concentration de 6,7 mg/ml	Headings (1976)
Fagaronine	Souris atteinte de leucémie + fagaronine  - 25 mg/kg - 50 mg/kg - 100 mg/kg	Prolongation de la vie de l'animal par rapport aux animaux de contrôle de : - 190% - 210% - 265%	Messmer (1972)

### 2.1.6.11. Données Toxicologiques

L'espèce *zanthoxyloïdes* est indubitablement non toxique. Cette toxicité a été bien étudiée par Isaacs-Sodeye ; il n'en existe pas par la voie orale et elle est faible pour les autres voies.

L'extrait méthanolique des écorces de racines est ichtyotoxique.

200 mg de cet extrait provoque une paralysie en 2 minutes chez les poissons tandis que l'extrait éthanolique leur provoque un effet spasmolytique.

1,25 ml/kg d'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* administré aux souris pendant 7 jours n'a provoqué aucun effet pathologique (Isaacs Sodeye *et coll.*, 1975).

Selon Metou *et al* en 1988, la DL<sub>50</sub> par voie orale de l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* est de 20 g/kg chez les rats.

# **CHAPITRE 3 :**

## **TRAVAUX PERSONNELS**

# **METHODOLOGIE**

## **3.1. Matériels**

### **3.1.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal est constitué par les écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*, collectées en septembre 2001, à Sanakoroba (Mali) par l'herboriste Madou Diarra.

Le séchage a été effectué, sur une claie, à l'ombre, et à la température ambiante du laboratoire du DMT. Les racines ont été émondées et les écorces concassées au mortier en fins morceaux afin d'être pulvérisées au broyeur à hélice type Retsch SM 2000. Nous avons obtenu une poudre jaune, très fine, à partir des écorces. Un spécimen est disponible à l'herbier du DMT sous le N° 14606.

### **3.1.2. Animaux**

Nous avons travaillé sur des souris mâles et femelles de masse variant entre 20 et 25 g de l'animalerie du Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM). Ces souris issues d'une souche non consanguine qui a été sélectionnée à partir d'une lignée de souris présentant des caractéristiques de vigueur et de reproductivité appelée **CF<sub>1</sub>** (Carworth Farms Souche 1) et qui a été introduite à l'institut Marchoux en 1967 et prit le nom de **OF<sub>1</sub>** (Oncins France Souche 1) (Traoré, 1983).

## **3.2. Identification de la matière première**

### **3.2.1. Caractères morphologiques**

Les racines de *Fagara zanthoxyloïdes* sont droites, rugueuses, crevassées et de couleur jaune claire (**figure 2**)

### **3.2.2. Caractères organoleptiques**

La poudre des racines de *Fagara zanthoxyloïdes* est de couleur jaune, d'odeur faible et de saveur âcre ou piquant (**figure 3**).

### 3.3. Extraction

#### 3.3.1 Décoction à 100°C

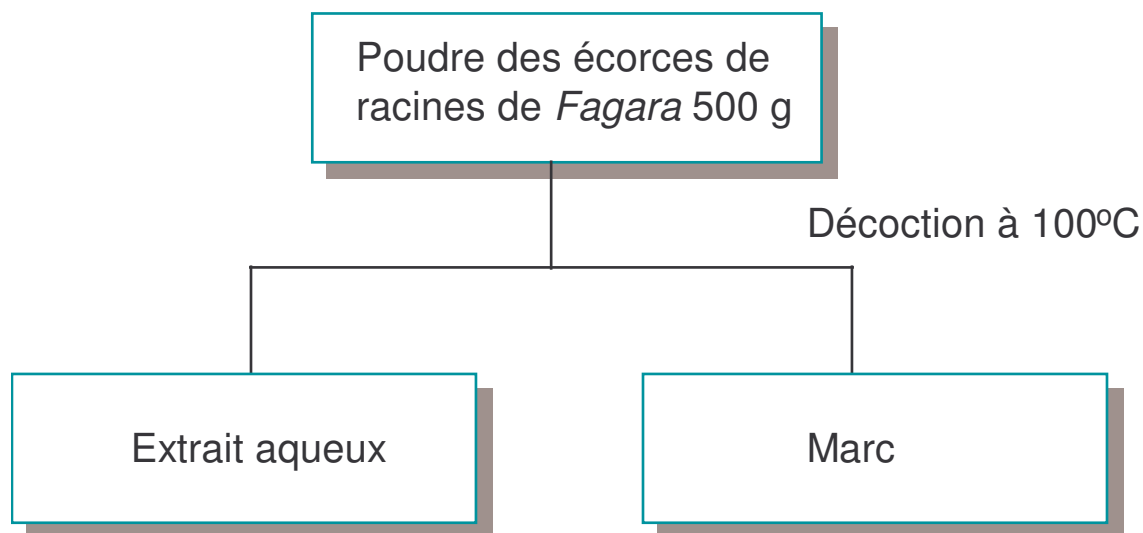
##### 3.3.1.1. Matériel

- Balance de précision type Sartorius.
- Rotavapor type 349/2.J Bibby
- Bain-marie Watherbath Bm 480
- Lyophilisateur type Heto.
- Congélateur marque Zanker
- Ballon de 5 litres
- Entonnoir
- Coton
- Spatule

##### 3.3.1.2. Mode opératoire

Nous avons pesé 500 g de poudre qui ont été introduits dans un ballon contenant 5 litres d'eau distillée: il s'agit d'une décoction à 10%. Nous l'avons bouillie pendant trois heures au bain marie. Après refroidissement, nous l'avons filtrée.

Le filtrat obtenu a été concentré sous vide à l'aide d'un rotavapor à la température de 50°C puis lyophilisé. Après lyophilisation, nous avons obtenu une poudre floconneuse de couleur marron qu'on a conservée dans les flacons en verre hermétiquement fermés.



**Figure n° 4:** Schéma d'extraction par décoction de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

### **3.3.2 Extraction par les solvants organiques et l'eau**

Les extractions ont été effectuées en agitant la drogue pendant 24 heures environ dans un volume de solvant approprié ; elles ont été répétées trois fois avec chaque solvant.

#### **3.3.2.1. Matériel et solvant**

- Ballon de 1000 ml en verre
- Agitateur magnétique type Tüv Bayern 94361
- Baguette magnétique
- Erlenmeyer
- Entonnoir
- Eprouvette graduée de 1000 ml
- Balance analytique type Sartorius
- Papier filtre Whatman® cat N° 1001.917
- Papier filtre en fibre de verre Whatman cat N° 1820.110
- Rotavapor type Buchi R-114
- Bain-marie B-480
- Pompe type Edward
- Spatule
- Thermomètre
- Solvant : éther de pétrole, dichlorométhane, méthanol, eau distillée.

#### **3.3.2.2. Mode opératoire**

##### **3.3.2.2.1. Extraction par les solvants organiques**

250 g de poudre ont été introduits dans un ballon de 1 litre et macérés dans 500 ml d'éther de pétrole, sous agitation magnétique, pendant 24 heures. Après filtration sur papier Whatman, nous avons concentré le filtrat au rotavapor à la température de 30°C.

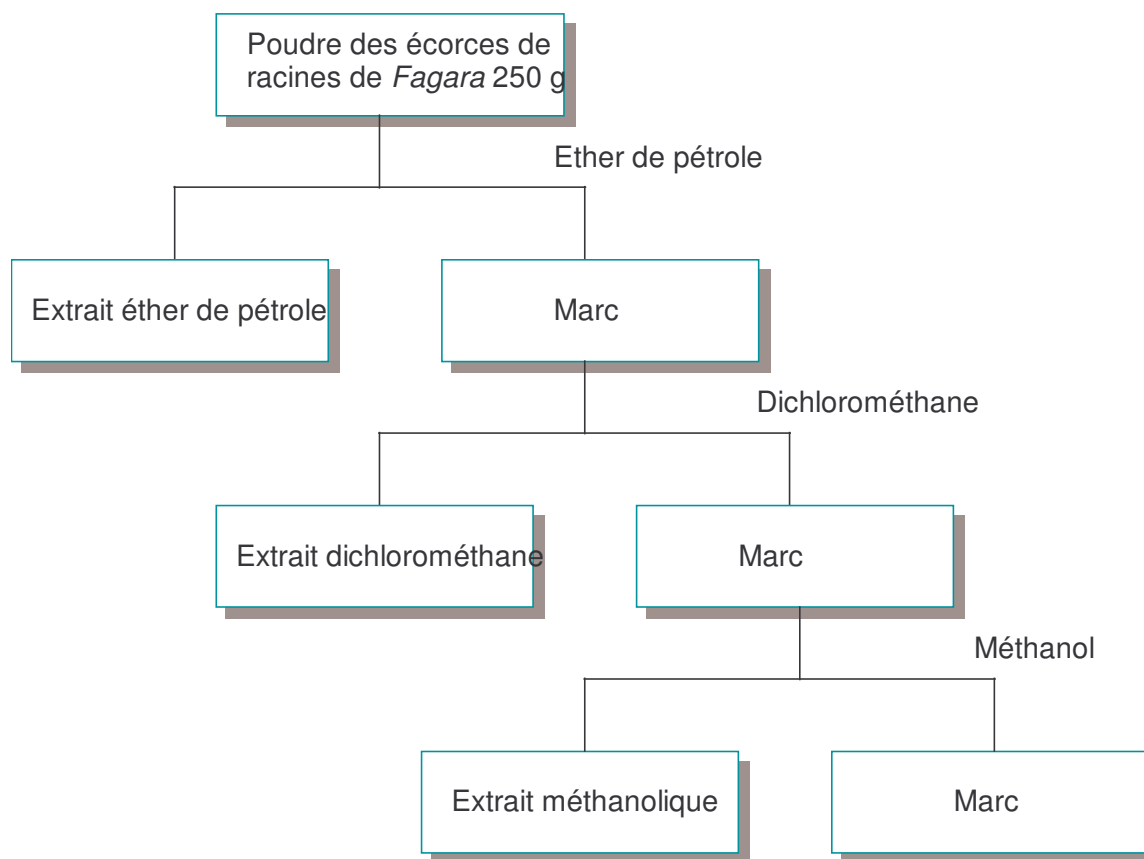
Cette opération répétée trois fois successivement a permis de récupérer un extrait huileux de couleur jaune que nous avons conservé dans un flacon ouvert pendant 24 heures afin d'éliminer toute trace de solvant.

Le marc a été repris avec 1600 ml de dichlorométhane conformément à la technique utilisée ci-dessus; nous avons obtenu un extrait gélatineux de couleur noire que nous avons conservé dans un flacon ouvert.

Le marc a été repris avec 1100 ml de méthanol conformément aux techniques précédentes; mais après concentration à sec au rotavapor, sous vide, à la température de 40 °C, le résidu a été récupéré avec un peu d'eau puis lyophilisé.

La lyophilisation qui dure 48 heures a permis d'obtenir une poudre floconneuse de couleur marron que nous avons conservée dans un flacon en verre et hermétiquement fermé. Le marc a été séché à la température ambiante du laboratoire puis utilisé pour l'extraction avec l'eau.





**Figure n° 5:** Schéma d'extractions par les solvants organiques de la poudre d'écorces des racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

### 3.3.2.2.2. Extraction par l'eau

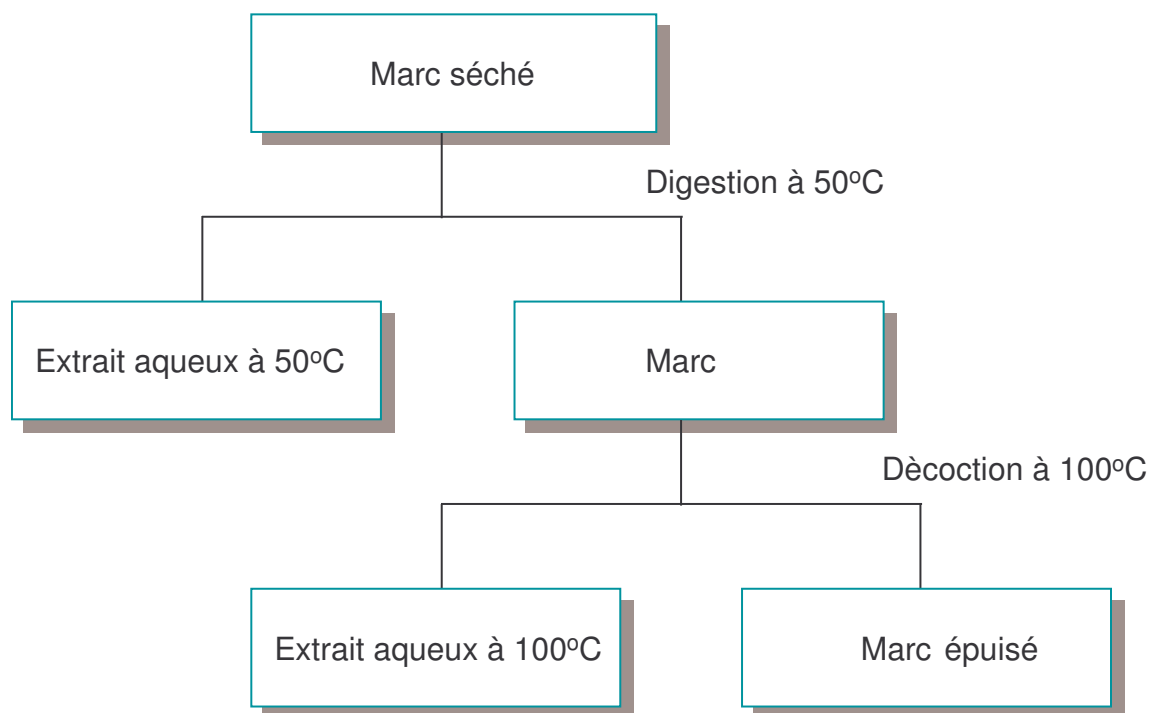
Le marc d'extraction des solvants organiques, séché, a été introduit dans un bécher auquel nous avons ajouté 1 litre d'eau. Ce mélange a été extrait par digestion à 50 °C dans un bain-marie pendant 3 heures. Le filtrat obtenu après filtration sur un papier filtre en fibre de verre a été concentré, sous pression réduite, à l'aide d'un rotavapor à la température de 50 °C. Le résidu a été repris avec un peu d'eau puis lyophilisé.

Le lyophilisat est une poudre floconneuse de couleur marron qui a été conservée dans un flacon en verre et hermétiquement fermé.

Le marc d'extraction par l'eau à 50 °C a été utilisé pour l'extraction à 100 °C. Nous avons utilisé un procédé d'extraction identique à celui de l'eau à 50 °C à la différence que la température du bain marie était maintenue à 100 °C pendant une durée de 3 heures.

Après filtration, l'extrait a été concentré au rotavapor et lyophilisé. Nous avons obtenu une poudre floconneuse de couleur marron.

Le final des différentes extractions a été séché et conservé dans un sachet en plastique.



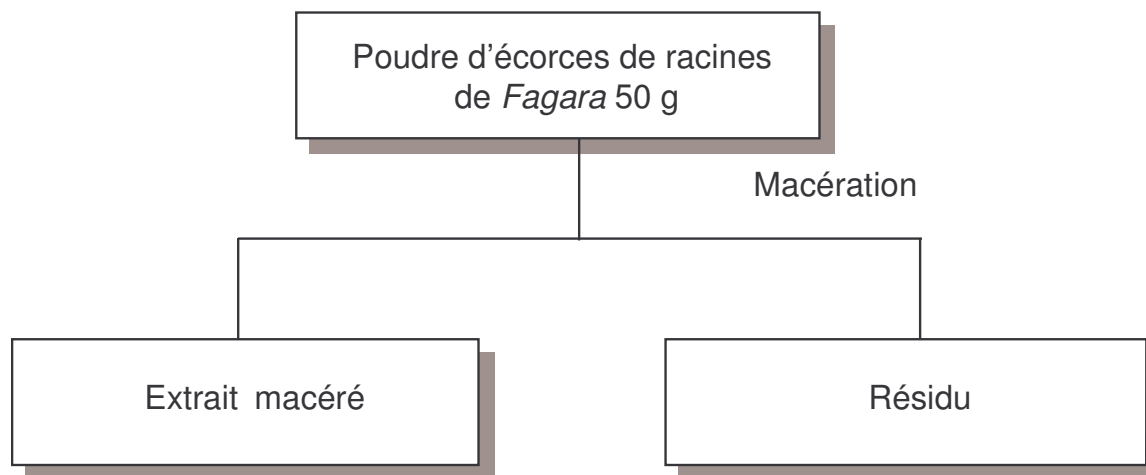
**Figure n° 6** : Schéma d'extractions par l'eau du résidu d'extraction par les solvants de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

### **3.3.3. Extraction par macération à l'eau**

50 g de poudre introduit dans un ballon d'un litre a été macérée dans 500 ml d'eau, sous agitation magnétique, pendant 24 heures. Après filtration sur papier Wathman, le filtrat a été concentré à sec au rotavapor sous vide à la température de 50°C. Cette opération a été répétée trois fois successivement. Après concentration, les filtrats ont été lyophilisés. Nous avons obtenu une poudre floconneuse de couleur marron que nous avons conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé.

Le marc de la filtration a été séché et conservé dans un sachet en plastique.

Les rendements de chaque extraction sont indiqués au chapitre des résultats.



**Figure n° 7** : Schéma de la macération par l'eau de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloides*

### **3.3.4. Séparation liquide-liquide**

#### **3.3.4.1. Matériel et solvant**

- Ampoule à décanter de 1 litre
- Potence
- Erlenmeyer de 500 ml
- Eprouvette graduée de 1 litre
- Balance analytique type Sartorius
- Rotavapor type 349/2.J. Bibby
- Lyophilisateur Driwinner type Heto.
- Solvant : Eau distillée, Ether de pétrole, Acétate d'éthyle , Butanol

#### **3.3.4.2. Mode opératoire**

50 g de poudre lyophilisée préalablement dissous dans 500 ml d'eau distillée sont introduites dans une ampoule à décanter. Nous y avons ajouté 600 ml d'éther de pétrole à raison de 200 ml toutes les 15 min suivit de décantations successives; nous avons obtenu une phase organique et une phase aqueuse. La phase organique constituée d'éther de pétrole a été récupérée puis concentrée au rotavapor à la température de 30°C. A l'issue de cette concentration, nous avons constaté qu'aucune substance extraite par décoction n'est soluble dans l'éther de pétrole.

A la phase aqueuse, nous avons ajouté 600 ml d'acétate d'éthyle selon le procédé ci-dessus. La phase organique a été récupérée puis concentrée à sec, au rotavapor à la température de 30°C.

Le résidu a été récupéré avec un peu d'eau puis lyophilisé.

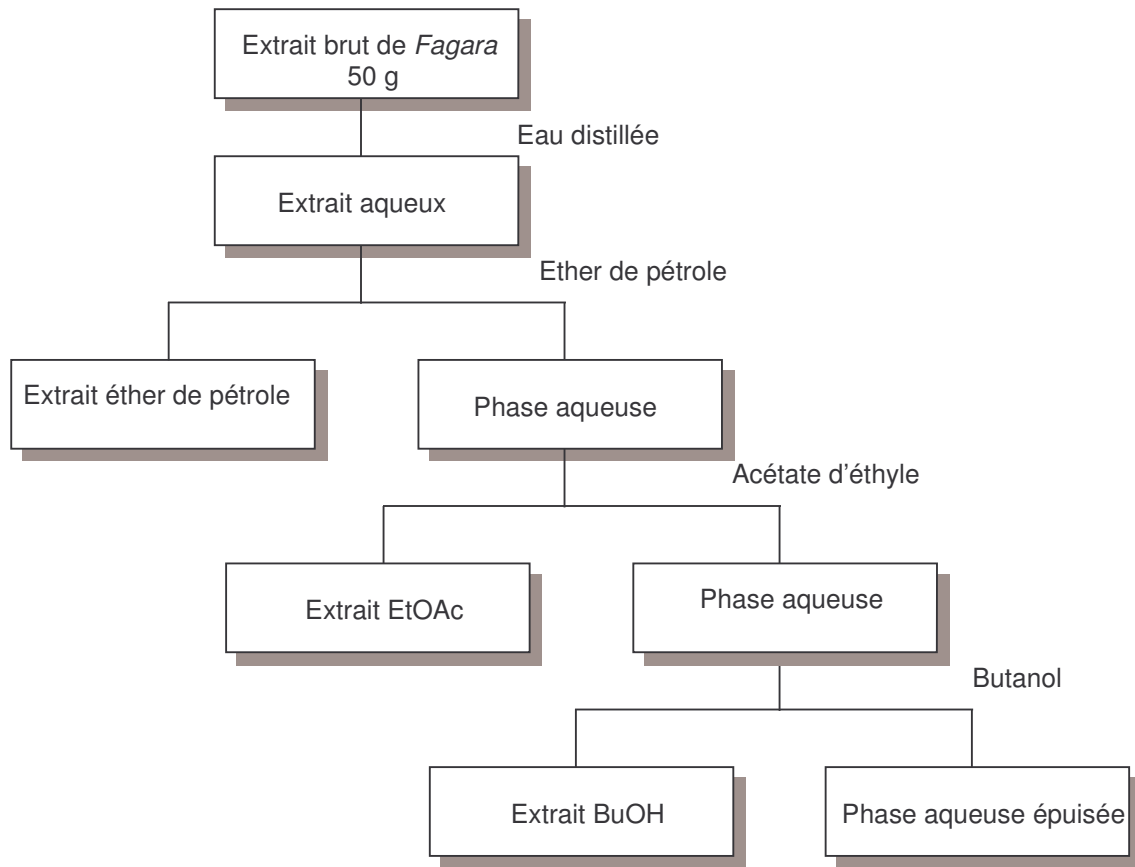
Le lyophilisat a permis d'obtenir une poudre de couleur marron.

La même opération a été réalisée avec le Butanol et le lyophilisat a donné une poudre de couleur jaune.

La phase aqueuse épuisée a été concentrée au rotavapor, sous vide, à la température de 50°C puis lyophilisée. Le lyophilisat a permis d'obtenir une poudre floconneuse de couleur marron foncée.

Tous les lyophilisats ont été conservés dans des flacons en verre et hermétiquement fermés.

Le marc final des différentes extractions a été séché et conservé dans des sachets en plastique.



**Figure n° 8** : Schéma de la séparation liquide-liquide de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloides*.

### **3.4. Chromatographie sur couche mince (CCM)**

#### **3.4.1. Matériels**

- Balance analytique de précision de type Sartorius
- Plaque en aluminium avec comme support le Silicagel 60F<sub>254</sub> (Merck)
- Cuves avec couvercle
- Crayon à papier
- Eprovettes
- Micropipettes de 5µl
- Pulvérisateur
- Réactifs de Godin et Dragendorff
- Règle
- Séchoir type Solis
- Réactifs : BuOH, EtOAc, Ligoïne, Acide acétique, Eau
- Lampe à UV type DESAGA

#### **3.4.2. Technique :**

Nous avons fait dissoudre 10 mg des extraits aqueux, BuOH, MeOH, macéré, aqueux épuisé et aqueux à 50°C et 100°C par 1 ml d'un mélange eau - méthanol (1 : 1). Par contre les extraits éther de pétrole, dichlorométhane, et méthanolique ont été respectivement dissous dans 1 ml de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de méthanol. A l'aide d'une micropipette, nous avons déposé 10µl de chaque solution sur la plaque. Les traces du solvant ont été complètement évaporées des dépôts à l'aide du séchoir. Ensuite, nous avons placé la plaque dans les cuves de développement contenant les systèmes de solvants suivants :

- Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25)
- Chloroforme - Méthanol - Eau (65 : 35 : 5)
- Ligoïne - Acétate d'éthyle (1 : 1)

La migration du solvant d'élution entraîne les substances contenues dans les extraits de plante à des vitesses variées; il se forment des tâches caractérisant les substances présentes dans l'extrait. La distance suffisante pour l'élution est d'environ 8 cm à partir de la ligne de départ.

Les plaques ont été retirées des cuves dès que le front de solvant a atteint environ 8 cm. Elles ont été séchées et les substances ont été révélées sous la lampe UV à 254 nm, à 366 nm; puis giclées avec le réactif de Dragendorff qui est spécifique à la révélation des alcaloïdes et le réactif universel de Godin qui permet de caractériser plusieurs groupes de constituants chimiques (Godin,1954).

Les plaques ont été ensuite chauffées à l'aide du séchoir jusqu'à révélation des composées (taches colorées sur fond blanc).

Chaque substance a été identifiée par sa fluorescence sous UV, par son facteur de rétention (Rf) dans un système de solvant précis et par sa couleur après révélation au réactif de Godin ou de Dragendorff.

$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par le front du solvant}}$$

### **3.5. TESTS BIOLOGIQUES**

#### **3.5.1. Détermination de la toxicité**

##### **3.5.1.1. Animaux**

- Le test a porté sur 30 souris mâles, à jeun de 18 h, de masse variant entre 20 et 25 g, réparties en 3 lots aussi homogènes que possible en fonction de leur masse.

##### **3.5.1.2. Matériels**

- Balance analytique
- Sonde gastrique
- Seringues graduées et aiguilles
- Gants
- Cage
- Extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*

##### **3.5.1.3. Détermination de la toxicité (DL<sub>50</sub>) par voie orale**

- Nous avons administré par voie intragastrique à un lot de 10 souris, la dose de 5 g/kg de masse corporelle, de l'extrait aqueux de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Nous avons observé les souris pendant 72 h afin de noter les éventuels manifestations pathologiques et le nombre de morts.
- Un lot contrôle composé de 10 souris a reçu uniquement de l'eau distillée par voie orale à raison de 0,025 ml/100 g de masse corporelle.

##### **3.5.1.4. Détermination de la toxicité (DL<sub>50</sub>) par voie intra-péritonéale**

- Nous avons administré par voie intra-péritonéale à 2 lots de 10 souris, les doses de 1 g/kg et 0,5 g/kg de masse corporelle, d'extrait aqueux de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.
- Nous avons observé les souris pendant 120 h afin de noter les éventuels troubles pathologiques et le nombre de morts.
- Un lot contrôle composé de 10 souris a reçu uniquement de l'eau distillée par voie intra-péritonéale à raison de 0,025 ml/100 g de masse corporelle.



### 3.5.2. Détermination de l'activité antalgique (Elizabeth *et al.*, 1996)

#### 3.5.2.1. Test de torsion

► Animaux utilisés :

- Le test a porté sur 30 souris mâles, à jeun de 18 h, de masse variant entre 20 et 25 g, réparties en 3 lots aussi homogènes que possible en fonction de leur masse.
- Le premier lot a été traité par l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*; Le deuxième lot a été traité par l'Indométacine à des doses de 25 mg/kg
- Le troisième lot témoin a reçu uniquement de l'eau distillée à raison de 0,025 ml pour 100 g de masse corporelle

► Réactifs

- Solution d'acide acétique à 0,6%
- Solution aqueuse d'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* à des doses de 500 mg, 1000 mg et 1500 mg/kg.
- Solution aqueuse d'indométacine
- Eau distillée

► Matériels

- Balance analytique
- Sonde gastrique
- Seringues graduées et aiguilles
- Gants
- Cage

► Méthode :

La substance à tester , l'indométacine, et l'eau distillée ont été administrées différemment aux trois groupes de souris, par voie intra-péritonéale, 1 heure avant l'administration de la solution diluée d'acide acétique (0,6%) à la dose de 10 µl/g de masse corporelle de souris.

Nous avons compté le nombre de torsions effectuées pendant les 20 minutes qui suivent l'injection de l'acide acétique.

► **Evaluation de l'activité antalgique :**

Nous avons calculé pour chaque groupe de souris la moyenne (M) et la déviation standard (SD). La signification statistique a été déterminée au moyen du test t student.

Le pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe de souris, traitées par les différentes doses d'extraits et le médicament de référence, a été calculé en comparant la moyenne de groupe de souris traitées avec celle du groupe témoin ayant reçu uniquement de l'eau distillée. Ce pourcentage d'inhibition de la douleur a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{inhibition} = \frac{\text{Mnt groupe témoin} - \text{Mnt groupe traité}}{\text{Mnt groupe témoin}} \times 100$$

Mnt = Moyenne du nombre de torsion

### **3.5.2.2. Test à la plaque chauffante**

► **Animaux utilisés :**

- Le test a porté sur 30 souris de masse variant entre 20 et 25 g, réparties en 3 lots aussi homogènes que possible en fonction de leur masse.
- Le premier lot a été traité par l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*; Le deuxième lot a été traité par le Tramadol à la dose de 25 mg
- Le troisième lot témoin a reçu uniquement de l'eau distillée à raison de 0,025 ml pour 100 g de masse corporelle.

► **Matériels et réactifs**

- Plaque chauffante
- Cylindre
- Chronomètre

- Solution aqueuse d'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* à des doses de 500 mg, 1000 mg et 1500 mg/kg.
- Solution aqueuse de Tramadol à la dose de 50 mg/kg
- Balance analytique
- Sonde gastrique
- Seringues graduées et aiguilles
- Gants
- Cage

► **Méthode** :

Nous avons administré les extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*, le Tramadol et l'eau distillée 1 heure avant de déposer la souris sur la plaque chauffante réglée à 55°C. Le chronomètre est déclenché dès que les pattes de la souris touchent la plaque.

Les seules réponses à considérer chez la souris sont le léchage des pattes, les sauts réalisés par la souris sur la plaque et ses réactions à vouloir quitter l'intérieur du cylindre. D'autres types de comportements ne sont pas pris en compte.

Le temps de réaction est mesuré au moment où la souris est maintenue sur la plaque chauffante pendant une durée de 30 secondes maximum.

Nous avons ensuite comparé les temps de réaction des animaux traités à ceux des souris ayant reçu uniquement de l'eau distillée.

### 3.5.3. Détermination de l'activité hémostatique

#### 3.5.3.1. Mesure du temps de coagulation par la méthode de Lee et White

► Matériels :

- Tubes en verre ordinaire de 75 x 10 mm
- Bain-marie
- Chronomètre
- Pipette
- Seringue
- Garrot

► Méthode :

100 mg d'extrait aqueux lyophilisé ont été dissout dans un 1 ml d'eau distillée. Nous avons reparti cette solution à raison de 10µl, 25 µl, 50 µl, et 100 µl dans deux tubes à essai pour chaque volume. Deux autres tubes à essai ont servi de témoin.

A l'aide d'une pipette, des volumes identiques ont été déposés sur des lames porte-objet. Une lame a servi de témoin et n'a reçu aucune dose de l'extrait . Nous avons ensuite prélevé 0,5 ml de sang humain qui a été additionné au contenu de chacun des lames.

Les tubes ont été bouchés avec du coton et incubés au bain-marie à 37°C.

Les lames ont été recouvertes de boîtes de pétri et laissées à la température ambiante du laboratoire.

Nous avons déclenché le chronomètre dès la pénétration du sang dans la seringue. Les observations ont commencé dès la 3<sup>e</sup> minute et s'étaient poursuivies toutes les 30 secondes.

L'évaluation de la coagulation a été faite en penchant le tube ou la lame sous un angle de 45°C afin de constater la présence ou non d'un coagula.

Le test a été positif si le temps de coagulation d'un sang contenant un extrait était inférieur à celui du sang témoin.

### **3.5.4. Détermination de l'activité antioxydante**

#### **► Dépistage de l'activité antioxydante sur CCM à l'aide du DPPH**

Le test chimique que nous avons employé pour déceler la présence de composés antioxydants dans les extraits de plantes est basé sur le principe de la réduction des radicaux libres fournis par le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH).

Au cours du screening général 10µl d'une solution de 10 mg/ml (M/V) de chaque extrait ont été déposés sur la plaque de Silicagel 60 F<sub>254</sub> (Merck) possédant un support en aluminium.

Le développement des plaques a été réalisé dans le système de solvant :

Butanol - Acide acétique - Eau (65 : 25 : 15).

Après migration, les chromatogrammes ont été séchés à l'aide d'un séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution de DPPH à la concentration de 2 mg/ml (M/V) dans le méthanol.

En présence de composés possédant des propriétés antioxydantes le DPPH est réduit et passe de la couleur pourpre au jaune.

Sur la plaque CCM, les zones d'activités antiradicalaires apparaissent jaune-blanc sur fond violet après un temps optimale de 30 minutes (Takao *et al.*, 1994).

### 3.5.5 Détermination de l'activité anti-inflammatoire

#### 3.5.5.1. Œdème à la carraghénine (Winter, 1962).

##### ► Animaux utilisés :

- Le test a porté sur 18 souris mâles de masse variant entre 20 et 25 g, réparties en 3 lots aussi homogènes que possible en fonction de leur masse.
- Le premier lot a été traité par l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*
- Le deuxième lot a été traité par l'Aspirine<sup>®</sup> à raison de 200 mg/kg de souris
- Le troisième lot témoin a reçu uniquement de l'eau distillée à raison de 0,025 ml pour 100 g de masse corporelle.

##### ► Réactifs

- Solution de carraghénine à 1% dissoute dans le liquide physiologique
- Solution aqueuse d'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* à des doses de 250 mg, 500 mg, 1000 mg et 1500 mg/kg.
- Solution aqueuse d'Aspirine<sup>®</sup>

##### ► Matériels

- Balance analytique
- Sonde gastrique
- Seringues graduées et aiguilles
- Gants
- Cage
- Ciseaux

##### ► Méthode :

- Nous avons mis les souris à jeun 18 heures avant le test.
- 1 heure avant de provoquer l'inflammation, nous avons administré par voie orale l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* au premier lot de souris.
- Les deuxième et troisième lots ont reçu respectivement, par la même voie, de l'eau distillée et l'Aspirine<sup>®</sup>.

- L'inflammation est produite en injectant sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche des souris 50µl de la solution de carraghénine à 1%: il se produit un œdème de la région métatarsienne.
- Les souris ont été remises en cage.
- Nous avons sacrifié les souris, par rupture de la nuque, 3 heures après l'injection de la carraghénine.
- Nous avons ensuite coupé rapidement les pattes postérieures à la hauteur de l'articulation tarso-crurale et pesé sur une balance analytique.

Nous avons calculé pour chaque souris, l'augmentation de la patte enflammée (patte postérieure gauche : PPG), qui a reçue la carraghénine par rapport au poids de la patte saine (patte postérieure droite: PPD) selon la formule : PPG - PPD.

► **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire** :

Nous avons calculé pour chaque groupe la moyenne (M) et la déviation standard (SD). La signification statistique a été déterminée au moyen du test t student. Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation, pour chaque groupe traité par les différentes doses de l'extrait et le médicament de référence, a été calculé en comparant la moyenne de l'augmentation de l'inflammation avec celle du groupe témoin traité avec l'eau distillée. Ce pourcentage est calculé selon la formule de Saenz *et al* (1998) :

$$\% \text{inhibition} = \frac{M(\text{PPG} - \text{PPD}) \text{ groupe témoin} - M(\text{PPG} - \text{PPD}) \text{ groupe traité}}{M(\text{PPG} - \text{PPD}) \text{ groupe témoin}} \times 100$$

### **3.5.6. Détermination de l'activité antifongique**

#### **3.5.6.1. Méthode bioautographique** (Diallo, 2000).

##### **3.5.6.1.1. Préparation des plaques CCM**

Les solutions correspondent aux concentrations de 10, 30, et 60 mg/ml (M/V) pour les extraits aqueux et organiques de la plante et 10 mg/ml (M/V) pour le témoin.

10 µl de chaque concentration ont été déposés sur les plaques de support en verre.

Les plaques ont été développées dans des systèmes de solvants :

Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25) et Ligoïne - Acétate d'éthyle (1 : 1). Les plaques ont été réalisées en double dont l'une sert de témoin.

Chaque plaque en verre a été visualisée à la lumière UV à 254 nm puis à 366 nm.

Laisser sécher les plaques à la température ambiante du laboratoire, avant le test, afin d'éliminer toutes traces de solvant.

Les plaques témoins ont été révélées avec les réactifs de Godin et de Dragendorff pour permettre l'identification des substances après le test biologique.

##### **3.5.6.1.2. Matériels d'étude**

###### **▶ Matériel végétal testé**

Extraits aqueux lyophilisés et organiques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

###### **▶ Solution de référence**

Nous avons utilisé la Nystatine dissout dans du chloroforme à la concentration de 100 µg/ml et un extrait dichlorométhane de *Swartzia madagascariensis* Desv. comme plante de référence à la concentration de 100µg/ml.

###### **▶ Champignon testé**

Nous avons utilisé une souche de *Candida albicans* obtenue à partir d'un prélèvement vaginal au laboratoire de bactériologie de l'hôpital du point "G" de Bamako.



### ► **Milieu de culture**

Nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- Sabouraud gélose + chloramphénicol + Actidione
- Sabouraud gélose liquide (SDA; Sabouraud Dextrose Agar).
- Malt agar

### ► **Préparation du milieu Sabouraud gélose liquide :**

Dissoudre 15 g de poudre de Sabouraud gélose dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 min puis bien agiter afin d'obtenir une suspension homogène. Chauffer en agitant jusqu'à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave KSB® à la température de 121 °C pendant 15 min.

### ► **Préparation du milieu Sabouraud gélose + Chloramphénicol + Actidione**

Nous avons utilisé la méthode de préparation décrite en haut en ajoutant le Chloramphénicol et l'Actidione qui ont permis l'isolement de *Candida albicans* en éliminant les germes saprophytes. Ce milieu est particulièrement recommandé pour les ensemencements souillés.

### ► **Préparation du milieu Malt agar**

Ajouter 48 g à un litre de l'eau déminéralisée par chauffage dans un bain-marie bouillant; passer avec précaution à l'autoclave pendant 10 min à 124 °C. Ne pas surchauffer.

## **3.5.6.2. Identification et conservation de souches de *Candida albicans***

### **3.5.6.2.1 Identification de *Candida albicans***

Les travaux ont porté uniquement sur les prélèvements vaginaux. L'identification de *Candida albicans* a été faite soit par examen microscopique, soit par culture ou par culture suivi de coloration Gram.

#### **■ Examens microscopiques**

Faire une observation du prélèvement entre lame et lamelle. Les caractères microscopiques que nous avons considérés ont trait à l'aspect des cellules. *Candida*

*albicans* présente un aspect de cellules levuriformes, rondes, ovalaires parfois bourgeonnantes.

### ■ **Culture**

Nous avons réalisé la culture de *Candida albicans* sur le milieu Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione coulé dans la boîte de pétri. La culture s'effectue par passage de l'écouvillon 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 constitués de l'aspect des colonies crémeuses blanches de *Candida albicans* à odeur caractéristique.

Le milieu d'identification Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione permet seulement le développement des spores de *Candida albicans*.

### ■ **Coloration de Gram**

Prélever dans la boîte de pétri ensemencée une colonie de levures.

Réaliser un frottis sur lame, laisser quelques minutes puis fixer à l'aide de l'alcool à 90°.

Après préparation de la lame, nous avons réalisé la coloration de Gram proprement dite.

A l'aide d'un microscope à l'objectif 100 en immersion nous avons observé des cellules levuriformes, colorées en violet et groupées en chaînettes.

### ■ **Test de filamentation**

C'est un test, préalable aux tests biologiques, qui atteste l'authenticité de la souche de *Candida albicans*.

Ce test met en évidence la production de filaments caractéristiques de *Candida albicans* dont 98% des souches en produisent.

Ensemencer la souche dans un tube contenant 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).

L'observation des filaments se fait au microscope à l'objectif 40 après 3 heures d'incubation à 37°C.

### **3.5.6.3. Conservation des souches.**

La conservation se fait sur milieu Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione coulé en tube incliné.

#### **► Principe :**

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

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

### **3.5.6.4. Solution à tester et témoin**

#### **3.5.6.4.1. Solutions à tester**

Les extraits de *Fagara zanthoxyloïdes* devant subir les tests biologiques, ont été utilisés à des concentrations progressives allant de 10 mg/ml, 20 mg/ml et 30 mg/ml. Les extraits aqueux ont été dissous dans de l'eau distillée tandis que les extraits organiques dans des solvants appropriés.

#### **3.5.6.4.2. Témoins pour le test**

Le test antifongique sur *Candida albicans* recommande l'utilisation de la Nystatine comme témoin en solution chloroformique à 1 mg/10 ml. Nous avons utilisé une solution dichlorométhane de *Swartzia* à la concentration de 100µg/ml.

### **8.6.1.7. Mode opératoire**

#### **Jour 1 :**

- (1). Repiquer une culture de *Candida albicans* sur le milieu de culture Sabouraud gélosé + Chloramphénicol + Actidione en boîte de pétri;
- (2). Incuber à 30 °C pendant environ 24 heures;

#### **Jour 2 :**

- (3). Préparer 2 erlenmeyers contenant 50 ml de milieu de culture Sabouraud liquide (SDB; Sabouraud Dextrose Broth) et les stériliser à l'autoclave pendant 15 min à 121 °C;
- (4). Ajouter à froid une pointe de spatule d'une colonie issue de (2) dans l'un des milieux préparés sous (3);
- (5). Laisser reposer une nuit sous agitation

#### **Jour 3 :**

- (6). En début de matinée, prendre 0,5 ml du milieu précédent (trouble) et l'ajouter au second milieu préparé sous (3) (dilution 100 fois);
- (7). Laisser reposer pendant environ 7 heures sous agitation. Ce temps est nécessaire pour atteindre la phase de croissance exponentielle de *Candida albicans*;
- (8). Pendant ce temps, préparer les milieux de culture à base de Malt Agar qui seront la base de l'inoculum versé sur les plaques CCM, et les répartir en erlenmeyers de 50 ml. La quantité du milieu de culture est fonction des dimensions de la plaque ; pour une plaque de 10 cm x 10 cm, la quantité du Malt Agar a été de 10 ml.

- (9). Maintenir le Malt Agar fondu au bain-marie à 48 °C car au dessus de cette température, les levures ne survivent pas et en dessous de 43°C, le milieu se solidifie;
- (10). Ajouter 0,5 ml de cette solution obtenue sous (6) à chaque fraction de 50 ml de Agar fondu, afin d'obtenir un inoculum contenant environ  $10^5$  cellules/ml ;
- (11). Laisser à nouveau reposer à 48°C;
- (12). Verser l'inoculum sur les plaques à l'aide de pipettes stériles à raison de 10 ml par portion de 10 cm x 10 cm;
- (13). Incuber à 30 °C pendant une nuit en atmosphère humide en utilisant des boîtes en plastique contenant un papier buvard détrempe;
- (14). Révéler les plaques à l'aide d'une solution aqueuse de bleu de tétrazolium (methylthiozolyl tetrazolium 2,5 mg/ml) : les zones d'inhibition de croissance apparaissent sous forme de tâches incolores sur fond violet, après une nouvelle incubation de 4 heures. Tous les extraits de *Fagara zanthoxyloïdes* ont été soumis à la même technique et au même test;
- (15). Gicler de l'éthanol sur les plaques afin de tuer les microorganismes;
- (16). Recouvrir les plaques de feuilles de plastique transparent afin de les conserver; dans ce cas, sécher préalablement l'Agar avec précaution.

# **CHAPITRE 4 :**

# **RESULTATS**

# RESULTATS

## **4.1. Extraction**

### **4.1.1. Résultats de la décoction à 10%**

L'extraction à 10% a donné une poudre floconneuse de couleur marron avec un rendement de 12%

### **4.1.2. Résultats de l'extraction par les solvants organiques et l'eau**

**TABLEAU XIII** : RESULTATS DES EXTRACTIONS PAR LES SOLVANTS ORGANIQUES ET L'EAU DE LA POUDRE D'ECORCES DE RACINES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*.

Type d'extrait	Masse obtenue (g)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Ether de pétrole	10	Huileux	Jaune	4
Dichlorométhane	15	Gélatineux	Noire	6
MeOH	20	Floconneux	Marron	8
Digestion à 50 °C	23	Floconneux	Marron	9,2
Digestion à 100 °C	12	Floconneux	Marron	4,8

Au cours de cette extraction, l'éther de pétrole a pu extraire 4% des substances tandis que la digestion à 50 °C nous a donné un rendement de 9,2%.

### **4.1.3. Résultats de la macération par l'eau**

La macération à l'eau a donné une poudre floconneuse de couleur marron avec un rendement faible de 1,8%

#### 4.1.4. Résultats de la séparation liquide-liquide

**TABLEAU XIV** : RESULTATS DE LA SEPARATION LIQUIDE-LIQUIDE PAR LES SOLVANTS ORGANIQUES DE LA POUDRE D'ECORCES DE RACINES DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

Type d'extrait	Masse obtenue (g)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Ether de pétrole	0	-	-	0
Acétate d'éthyle	12	Poudreux	Marron	24
Butanol	4	Floconneux	Marron foncé	8
Aqueux épuisé	26	Floconneux	Marron foncé	52

Au cours de cette séparation, aucune substance extraite par la décoction n'a été soluble dans l'éther de pétrole. Le rendement le plus élevé a été obtenu dans l'extrait aqueux épuisé.



## 4.2. Résultats des chromatographies sur couche mince (CCM)

**TABLEAU XV** : RESULTATS DE LA CCM A 254 nm DANS LE SYSTEME BAW

Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25)			
Révélation	Extrait	Rf	Couleur
254 nm	Aqueux total	0,30	Violet
		0,38	Bleu
		0,46	Jaune
		0,61	Jaune
		0,66	Vert
		0,71	Jaune
		0,75	Noir
		0,80	Bleu
		0,90	Marron
		Butanolique	0,27
	0,33		--
	0,40		--
	0,46		Jaune
	0,51		Noir
	0,53		--
	0,58		--
	0,65		--
	0,76		--
	0,81		--
	0,85		--
	0,91	--	
	Méthanolique	0,22	Noir
		0,27	--
		0,33	--
		0,40	--
		0,47	Jaune
		0,53	Noir
		0,68	Bleu
		0,75	Noir
		0,81	Noir
	Aqueux 50 °C	0,16	Noir
		0,21	--
		0,25	--
		0,31	--
		0,37	--
		0,41	--
		0,46	--
		0,56	--
		0,68	--
0,75		--	

**TABLEAU XVI** : SUITE DES RESULTATS DE LA CCM A 254 nm DANS LE SYSTEME BAW

<b>Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>254 nm</b>	Aqueux 100 °C	0,16	Noir
		0,21	--
		0,33	--
		0,46	--
		0,70	--
	Macéré	0,43	Noir
		0,52	--
		0,68	--
		0,75	--
		0,78	--
		0,81	--
	Aqueux épuisé	0,31	Noir
		0,42	--
		0,50	--
		0,57	--
0,68		--	

**TABLEAU XVII** : RESULTATS DE LA CCM A 366 nm DANS LE SYSTEME B.A.W.

<b>Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>366 nm</b>	Aqueux total	0,18	Marron
		0,31	Bleu
		0,38	Marron
		0,40	Jaune
		0,52	Vert
		0,70	Bleu
		0,76	Vert
		0,90	Jaune
		Butanolique	0,12
	0,18		Violet
	0,26		Gris
	0,38		Jaune
	0,46		Noir
	0,50		Vert
	0,56		Jaune
	0,60		Bleu
	0,66		Marron
	0,78		Bleu
	0,90		Marron
	Méthanolique	0,17	Jaune
		0,27	Jaune
		0,41	Violet
		0,50	Jaune
		0,62	Jaune
		0,68	Bleu
		0,73	Jaune
		0,81	Jaune
		0,90	Jaune
	Aqueux 50 °C	0,26	Jaune
		0,31	Vert
		0,47	Jaune
		0,72	Bleu
	Aqueux 100 °C	0,43	Jaune
0,50		Vert	
0,60		Jaune	
0,68		Bleu	
0,70		Jaune	

**TABLEAU XVIII:** SUITE DES RESULTATS DE LA CCM A 366 nm DANS LE SYSTEME BAW

<b>Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>366 nm</b>	Macéré	0,28	Jaune
		0,43	--
		0,46	Vert
		0,55	Jaune
		0,60	Vert
		0,68	Marron
		0,75	Bleu
		0,81	Violet
		0,91	Jaune
	Aqueux épuisé	0,23	Jaune
		0,35	Violet
		0,42	Bleu
		0,46	Jaune
		0,53	Vert
0,57		Marron	

**TABLEAU XIX** : RESULTATS DE LA CCM A 254 nm DANS LE SYSTEME LIGROINE - EtOAc

<b>Système de solvant : Ligroïne - Acétate d'éthyle (1 : 1)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>254 nm</b>	Ether de pétrole	0,28	Noir
		0,37	Bleu
		0,50	Noir
		0,60	--
		0,66	--
		0,68	--
		0,81	--
		0,87	Jaune
		0,93	Noir
	Acétate d'éthyle	0,10	Noir
		0,22	--
		0,27	--
		0,4	--
		0,53	--
	Dichlorométhane	0,28	Noir
		0,37	Bleu
		0,43	Noir
		0,50	--
		0,60	--
		0,68	--
		0,87	Jaune
0,93		Noir	
<b>366 nm</b>		Ether de pétrole	0,28
	0,37		Orange
	0,43		Marron
	0,56		Vert
	0,66		Marron
	0,68		Marron
	0,80		Bleu
	0,87		Vert
	0,93		Violet
	Acétate d'éthyle	0,10	Marron
		0,28	Vert
		0,37	Bleu
		0,43	Vert
		0,53	Marron
	Dichlorométhane	0,28	Violet
		0,37	Vert
		0,43	Bleu
		0,58	Marron
		0,68	Vert

**TABLEAU XX** : RESULTATS DE LA CCM APRES REVELATION AVEC LE REACTIF DE DRAGENDORFF

<b>Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (60 : 15 : 25)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>Dragendorff</b>	Aqueux total	0,31 0,37 0,43 0,55	Tâche orange -- -- --
	Butanolique	0,24 0,31 0,37 0,46 0,52	Tâche orange -- -- -- --
	Méthanolique	0,25 0,38 0,45 0,5 0,56 0,69 0,75 0,93	Tâche orange -- -- -- -- -- -- -- --
	Aqueux 100 °C	0,63	Tâche orange
	Aqueux 50 °C	0,38 0,56 0,62	Tâche orange -- --
	Macéré	0,38 0,45 0,51 0,56 0,63	Tâche orange -- -- -- --
	Aqueux épuisé	0,22 0,41 0,45 0,50 0,55	Tâche orange -- -- -- --

**TABLEAU XXI** : RESULTATS DE LA CCM APRES REVELATION AU GODIN DANS LE SYSTEME BAW

<b>Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (65 : 15 : 25)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>couleur</b>
<b>Godin</b>	Aqueux total	0,38	Grise
		0,51	Rouge
		0,53	Jaune
	Butanolique	0,27	Grise
		0,45	Jaune
		0,51	Jaune
		0,57	Rouge
	Acétate d'éthyle	0,35	Marron
		0,53	Marron
		0,83	Rouge
	Méthanolique	0,26	Grise
		0,45	Jaune
		0,76	Rouge
	Aqueux à 100 °C	0,48	Rouge
	Macéré	0,16	Marron
		0,52	Rouge
	Aqueux épuisé	0,36	Rouge

**TABLEAU XXII:** RESULTATS DE LA CCM APRES REVELATION AU GODIN DANS LE SYSTEME LIGROINE - ACETATE D'ETHYLE

<b>Système de solvant : Ligroïne - Acétate d'éthyle (1 : 1)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>Godin</b>	Ether de pétrole	0,19	Gris
		0,31	Vert
		0,38	Gris
		0,41	Gris
		0,44	Violet
		0,50	Violet
	Acétate d'éthyle	0,94	Violet
	Dichlorométhane	0,83	Gris



**TABLEAU XXIII** : RESULTATS DE LA CCM APRES REVELATION AU DRAGENDORFF DANS LE SYSTEME LIGROINE - ACETATE D'ETHYLE

<b>Système de solvant : Ligroïne - Acétate d'éthyle (1 : 1)</b>			
<b>Révélation</b>	<b>Extrait</b>	<b>Rf</b>	<b>Couleur</b>
<b>Dragendorff</b>	Ether de pétrole	0,19	Tâche orange
		0,31	--
		0,38	--
		0,41	--
	Dichlorométhane	0,13	Tâche orange
		0,19	--
		0,25	--
		0,29	--
		0,31	--
		0,38	--
		0,50	--

#### 4.4. Résultats des tests biologiques

##### 4.4.1. Résultats de la toxicité aiguë de *Fagara zanthoxyloïdes* :

##### 4.4.1.1 Toxicité aiguë (DL<sub>50</sub>) par voie orale

**TABLEAU XXIV** : RESULTATS DE LA DL<sub>50</sub> PAR VOIE ORALE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE  
*FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

Produit	Dose en g/kg	Nombre de souris	Mortalité			Nombre de morts	Pourcentage de morts
			24 h	48 h	72 h		
<i>Fagara</i>	5	10	0	0	0	0	--
Eau distillée	25 ml	10	0	0	0	0	--

Au cours de cette étude, avec une dose aussi élevée de 5 g/kg que nous avons administrée, nous n'avons obtenu aucun mort chez les souris pendant les 72 heures d'observation. La DL<sub>50</sub> est supérieure à 5 g/kg

##### 4.4.1.2. Toxicité aiguë (DL<sub>50</sub>) par voie intra-péritonéale

**TABLEAU XXV** : RESULTATS DE LA DL<sub>50</sub> PAR VOIE INTRA-PERITONEALE DE L'EXTRAIT  
AQUEUX DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*

Produit	Dose en g/kg	Nombre de souris	Mortalité			Nombre de morts	Pourcentage de morts
			24 h	72 h	120 h		
<i>Fagara</i>	1	10	0	0	0	0	--
<i>Fagara</i>	0,5	10	0	0	0	0	--
Eau distillée	25 ml	10	0	0	0	0	--

Au cours de cette étude, aucune souris n'était morte pendant les 5 jours d'observation. La DL<sub>50</sub> est supérieure à 1 g/kg.

#### 4.4.2. Résultats des tests de l'activité antioxydante

Le test de l'activité antioxydante que nous avons réalisé sur des plaques CCM et révélées à l'aide du DPPH, a donné les résultats suivants en fonction des Rf .

**TABLEAU XXVI** : RESULTATS DU TEST ANTIOXYDANT DES EXTRAITS DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* SUR CCM APRES REVELATION AU DPPH.

Système de solvant : Butanol - Acide acétique - Eau (65 : 15 : 25)			
Révélation	Extrait	Rf	Couleur
DPPH	Aqueux total	0,39	Jaune blanc sur fond violet
		0,43	--
	Butanolique	0,22	Jaune blanc sur fond violet
		0,31	--
		0,38	--
		0,43	--
		0,50	--
	Aqueux épuisé	0,37	Jaune blanc sur fond violet
		0,43	--

Les extraits aqueux, butanolique et épuisé de *Fagara zanthoxyloïdes* ont donné de résultats positifs au cours du test au DPPH; l'extrait butanolique a montré une bonne antifongique.

### 4.4.3. Résultats des tests de l'activité antalgique

#### 4.4.3.1. Test de Torsion

**TABLEAU XXVII** : RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTALGIQUE DES EXTRAITS AQUEUX DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* CONTRE LES TORSIONS PROVOQUEES PAR L'ACIDE ACETIQUE.

Produits	Doses ml-mg/kg	Nombre de torsion	% inhibition
		M ± DS	
Eau distillée	25	71,17 ± 6,49	--
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	500	48,50 ± 9,35*	31,85
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	1000	42,00 ± 6,42*	40,98
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	1500	33,33 ± 4,08*	53,16
Indométacine 25 mg	5	33,67 ± 3,50*	52,69
Tramadol 50 mg	5	30,50 ± 6,71*	57,14

M = Moyenne de 6 souris; résultats exprimés en M ± DS (Déviation standard); \*p<0,01; test t Student.

L'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré un effet dose-dépendant. L'extrait à la dose de 1500 mg/kg a eu les mêmes effets d'inhibition de la douleur que l'indométacine à 5 mg/kg à environ 53 % et légèrement inférieure à l'effet du Tramadol qui a été de 57%.

#### 4.4.3.2. Test à la plaque chauffante

##### ► Chez les souris femelles

**TABLEAU XXVIII** : RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTALGIQUE DES EXTRAITS AQUEUX DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* PAR LA METHODE DE LA PLAQUE CHAUFFANTE CHEZ LES SOURIS FEMELLES

Produits	Dose ml mg/kg	Avant administration	Après administration			
			Temps de réaction en secondes			
		10 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Eau distillée	25	6,69 ± 1,36	1,54 ± 0,67	3,66 ± 1,90	8,31 ± 4,13	4,22 ± 3,08
<i>Fagara</i>	1000	6,61 ± 1,71	2,79 ± 1,02	2,23 ± 0,79	1,76 ± 0,39	1,60 ± 0,40
Tramadol	5	4,38 ± 0,60	28,12 ± 5,1	23,91 ± 9,08	18,25 ± 4,56	10,59 ± 3,3

M = Moyenne de 10 souris; résultats exprimés en M ± DS (Déviation standard); (\*p<0,000001 à 0,001) test t Student.

Au cours de nos tests, les souris femelles ont été plus sensibles à la plaque chauffante que les souris mâles avec un temps de réaction faible

##### ► Chez les souris males

**TABLEAU XXIX** : RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTALGIQUE DES EXTRAITS AQUEUX DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* PAR LA METHODE DE LA PLAQUE CHAUFFANTE CHEZ LES SOURIS MALES

Produits	Dose mg/kg	Avant administration	Après administration			
			Temps de réaction en secondes			
		10 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Eau distillée	25	8,01 ± 1,90	4,95 ± 1,73	6,69 ± 2,23	6,79 ± 2,27	3,34 ± 0,70
<i>Fagara</i>	1000	4,81 ± 0,62	5,31 ± 1,69	4,88 ± 0,55	6,92 ± 0,83	4,32 ± 1,01
Tramadol	5	3,97 ± 1,02	8,48 ± 3,30	25,43 ± 0,32	26,12 ± 7,43	9,17 ± 4,27

M = Moyenne de 10 souris; résultats exprimés en M ± DS (Déviation standard); (\*P<0,000001 à 0,001); test t Student.

Le test antalgique a montré que l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* ne présente pas une activité centrale. Les souris réagissaient à la plaque chauffante après 5 s maximum contrairement au Tramadol avec lequel elles réagissaient après 25 s.

#### 4.4.5. Résultats des tests de l'activité hémostatique

##### ► Temps de coagulation du sang

**TABLEAU XXX:** RESULTATS DE L'ACTIVITE DES EXTRAITS DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* SUR LE TEMPS DE COAGULATION DU SANG.

Extrait	Temps de coagulation du sang en minute							
	Tube	Lame	Tube	Lame	Tube	Lame	Tube	lame
	10µl		25µl		50µl		100µl	
Témoin	12,37	14,39	12,37	14,39	12,37	14,39	12,37	14,39
Aqueux	9	12,30	17	14	>20	--	>20	--
Butanolique	3,50	6,30	6,30	10	10	18	19	19,30
EtOAc	6	8	7	12	7,50	16,30	10,35	14,39
Méthanol	9	14	8	--	--	--	--	--
Macéré	9,30	13	--	--	--	--	--	--
DCM	9	10	12,30	18	12,37	20	--	--
Eau 50 °C	12	18	--	--	--	--	--	--
Eau 100 °C	11,30	13	13	15	12,30	--	14	--

Tous les extraits de *Fagara zanthoxyloïdes* ont donné des résultats positifs aux doses de 10 µl. L'extrait butanolique a été le plus actif au cours de ce test en réduisant de moitié le temps de coagulation du sang par rapport au témoin sur lame et de 2/3 en tube.

#### 4.4.5. Résultats des tests de l'activité anti-inflammatoire

**TABLEAU XXXI** : RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES EXTRAITS AQUEUX DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES*, 3 HEURES APRES L'INDUCTION DE L'OEDEME

Produits	Doses ml-mg/kg	PPG - PPD M ± DS	% inhibition
Eau distillée	25	0,122 ± 0,019	--
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	250	0,097 ± 0,009	20,53
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	500	0,097 ± 0,016*	20,98
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	1000	0,085 ± 0,007**	30,52
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	1500	0,069 ± 0,023*	52,16
Aspirine <sup>®</sup>	100	0,074 ± 0,010**	39,78
Aspirine <sup>®</sup>	200	0,089 ± 0,017*	27,25
Indométacine	5	0,089 ± 0,013*	26,98

M = Moyenne de 6 souris; résultats exprimés en M ± DS (Déviation standard); \*p<0,05  
\*\*p<0,01; test t Student.

L'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré un effet dose-dépendant; l'extrait à la dose de 1500 mg/kg, a montré une activité anti-inflammatoire deux fois plus supérieure que celle de l'Aspirine<sup>®</sup> et de l'Indométacine.

**TABLEAU XXXII** : RESULTATS DE L'EVOLUTION DE L'EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *FAGARA ZANTHOXYLOIDES* DANS LE TEMPS

Produits	Doses ml- mg/kg	DP 1h	DP 3h	DP 5h
Eau distillée	25	0,093 ± 0,134	0,122 ± 0,019	0,091 ± 0,007
<i>Fagara zanthoxyloïdes</i>	1000	0,092 ± 0,021 (0,54%)	0,085 ± 0,007** (30,25%)	0,078 ± 0,023 (14,60%)
Aspirine®	100	-	0,074 ± 0,010** (39,78%)	-
Indométacine	5	-	0,089 ± 0,013* (26,98%)	-

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* est élevée après 3 heures de temps. Elle est quasiment nulle après 1 heure de temps et insignifiante au bout de 5 heures de temps.



#### 4.4.6. Résultats des tests de l'activité antifongique

**TABLEAU XXXIII** : RESULTAT DU TEST DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

Système de solvant : Ligoïne - Acétate d'éthyle (1 : 1)			
Révélation	Extrait	Rf	Observations
<b>Bleu de tétrazolium</b>	Ether de pétrole	0,18	Tâches incolores
		0,25	--
		0,31	--
		0,43	--
		0,50	--
	Dichlorométhane	0,18	Tâches incolores
		0,25	--
		0,31	--
		0,68	--
	Méthanolique	0,37	Tâches incolores
		0,57	--
		0,93	--
	<i>Swartzia</i>	0,12	Tâches incolores
		0,25	--
		0,37	--
		0,50	--
	Nystatine	0,40	Tâches incolores

Au cours de ce test réalisé sur CCM, les extraits éther de pétrole, dichlorométhane et méthanolique de *Fagara zanthoxyloïdes* ont réagi positivement en inhibant la croissance des souches de *Candida albicans* par des substances dont les Rf sont présents dans le **tableau n° 32** ; l'extrait éther de pétrole a montré la meilleure activité fongicide.

**TABLEAU XXXIV** : RESULTATS DE LA CCM DE LA PLAQUE TEMOIN DU TEST DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE APRES REVELATION AU DRAGENDORFF

Système de solvant : Ligroïne - Acétate d'éthyle (1 : 1)			
Révélation	Extrait	Rf	observations
<b>Dragendorff</b>	Ether de pétrole	0,18	Tâche orange
		0,25	--
		0,31	--
		0,43	--
		0,50	--
	Dichlorométhane	0,18	Tâche orange
		0,25	--
		0,31	--
		0,68	--
	<i>Swartzia</i>	0,12	Tâche orange
		0,37	--
		0,50	--

Les substances ayant réagi au test antifongique possèdent les mêmes Rf que celles qui ont été révélées avec le réactif de Dragendorff. L'activité antifongique peut être due à la présence des alcaloïdes présents dans la plante.

# **Commentaires et Discussions**

## **COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS**

Notre travail a porté sur la recherche des activités biologiques des extraits aqueux et organiques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

Nous avons dépisté les activités antalgiques, anti-inflammatoires, hémostatiques, antioxydantes et antifongiques des différents extraits. Pour l'interprétation des résultats, nous avons pris en compte ceux de certaines études antérieures.

Le choix des écorces de racines et des activités citées est lié au fait que cette partie de la plante est traditionnellement utilisée pour traiter les affections courantes et particulièrement bucco-dentaires.

Pour l'obtention des différents extraits de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*, nous avons réalisé des extractions aqueuses et organiques par la méthode de polarité croissante.

La décoction à 10% a donné un rendement de 12%. Les rendements d'extractions par les solvants organiques ont été de 4%, 6%, et 8% respectivement pour l'éther de pétrole, le dichlorométhane et le méthanol. Le pourcentage d'extraction par l'eau du marc épuisé par les solvants organiques à la température de 50°C et 100°C a été respectivement de 9,2% et 4,8%. Le meilleur rendement obtenu par décoction valide la forme traditionnelle d'utilisation (décocté) de *Fagara zanthoxyloïdes*.

Au cours de la séparation liquide-liquide, aucune substance extraite par la décoction à 10% n'est soluble dans l'éther de pétrole, 12% des substances ont été extraites par l'acétate d'éthyle alors que 4% des substances étaient solubles dans le butanol et 52% des substances sont restées hydrosolubles. Le pourcentage des substances extractibles par macération à l'eau a été de 1,8%. Ce faible rendement, peut expliquer le fait que cette méthode est peu utilisée par les tradithérapeutes (Isaac-Sodeye *et al*, 1975).

Les CCM réalisées nous ont permis de confirmer les différents groupes chimiques identifiés dans les études phytochimiques préliminaires. Le réactif de Dragendorff a été utilisé spécifiquement pour la révélation des alcaloïdes tandis que celui de Godin, qui est un réactif universel, a été utilisé pour la révélation des autres constituants chimiques.

La DL<sub>50</sub> a été déterminée en administrant par voie orale et intra-péritonéale les extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* aux souris et procéder à une observation pendant 72 heures. C'est ainsi qu'aucun décès n'a été constatée chez les souris ayant reçu par voie orale l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* aux doses de 5 g/kg; la DL<sub>50</sub> est donc supérieure à 5 g/kg.

De même, aucun cas létal n'a été enregistré chez les souris ayant reçu par voie intra-péritonéale les doses de 0,5 et 1 g/kg d'extrait; la DL<sub>50</sub> est donc supérieure 1 g/kg. Ces résultats confirment ceux de l'étude toxicologique de l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* qui ont montré que la dose de 50 g/kg d'extrait administrée par voie orale n'a provoqué aucun décès chez les rats (Metou *et al*, 1988).

Ces résultats confirment l'innocuité de la forme traditionnelle d'utilisation (décocté) de *Fagara zanthoxyloïdes*.

Nos études ont montré que les extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* agissent sur l'inflammation et la douleur; les extraits aqueux et organiques empêchent l'oxydation, réduisent le temps de coagulation sanguine et inhibent le développement des champignons.

Concernant le test de l'activité antioxydante que nous avons réalisé sur des plaques CCM, les extraits aqueux, butanolique et épuisé ont réagi positivement à des doses de 100 µg. La plus forte activité a été observée avec l'extrait butanolique au niveau des substances dont les Rf sont égales à 0,35 et 0,50. Selon Potterat en 1997, l'activité antioxydante peut être due à la présence de composés polyphénoliques présents dans les extraits de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

L'activité antioxydante retrouvée dans les extraits des écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* confère à la plante des vertus thérapeutiques contre certaines pathologies telles que le cancer, l'athérosclérose, l'asthme et l'arthrite (Chevalley, 2000).

Deux méthodes nous ont permis de déterminer l'activité antalgique : le test de torsion pour l'évaluation d'une activité antalgique périphérique et le test à la plaque chauffante pour l'évaluation d'une activité antalgique centrale.

Au cours du test de torsion, aucune inhibition de la douleur n'a été constatée chez les souris ayant reçu uniquement l'eau distillée. L'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* a

montré une activité antalgique dose-dépendante. L'extrait aqueux à la dose de 500 mg/kg a inhibé la douleur de 31,85% chez les souris. La dose de 1000 mg/kg d'extrait de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré un pourcentage d'inhibition de la douleur de 40,98% chez les souris. Le meilleur pourcentage d'inhibition de la douleur a environ 53% a été observé avec la dose de 1500 mg/kg d'extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* qui a eu les mêmes effets que l'Indométacine à 5 mg/kg et légèrement moindre que l'effet du Tramadol qui était de 57%.

L'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré une faible activité antalgique centrale. Les souris réagissaient à la plaque chauffante après 5 secondes maximum contrairement au Tramadol avec lequel les souris ont réagi après 25 secondes. L'activité antalgique obtenue confirme l'utilisation des extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* dans le traitement des crises drépanocytaires (Sofowara, 1971).

Des résultats similaires ont été obtenus au cours d'un screening avec les extraits méthanoliques des feuilles de *Croton cajucara* Benth. qui ont inhibé la douleur de 53% chez les souris (Campos *et al*, 2002).

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, nous avons provoqué un œdème par injection intra-plantaire d'une solution à 1% de carraghénine, réactif recommandé. L'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*, aux doses de 1500 mg/kg, a montré une activité anti-inflammatoire dose-dépendante chez les souris. Aucune inhibition de l'inflammation n'a été constatée chez les souris ayant reçu uniquement l'eau distillée à la dose de 25 ml/kg.

Afin de suivre l'effet anti-inflammatoire des extraits aqueux sur les différents stades de l'inflammation, les pattes des souris ont été coupées et pesées dans des intervalles de temps de 1 heure, 3 heures et 5 heures après l'administration des extraits. Ainsi, 1 heure après administration de l'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* à la dose de 1000 mg/kg, l'inflammation a été inhibée de 0,54%.

Quant à l'étude de l'action des extraits sur l'évolution de l'inflammation dans un intervalle de temps de 3 heures, nous avons utilisé des doses de 250 mg, 500 mg, 1000 mg et 1500 mg/kg d'extrait aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes*.

La dose de 250 mg/kg d'extrait a inhibé l'inflammation de 20,53%;

La dose de 500 mg/kg d'extrait a inhibé l'inflammation de 20,98%;

La dose de 1000 mg/kg d'extrait a inhibé l'inflammation de 30,52%; La dose de 1500 mg/kg d'extrait a inhibé l'inflammation de 52,16%;

L'aspirine® à la dose de 100 mg/kg et l'indométacine à la dose de 5 mg/kg ont respectivement inhibé la douleur de 27,25% et 26,98%.

5 heures de temps après administration d'une dose d'extrait de 1000 mg/kg, l'inflammation a été inhibée de 14,60%. Ces résultats montrent que les écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* contiennent un principe actif anti-inflammatoire utile dans le traitement de l'inflammation aiguë. Selon Bani *et al* en 2000, la présence de composés triterpéniques parmi les constituants de *Fagara zanthoxyloïdes* peut expliquer cette activité anti-inflammatoire.

L'étude de l'activité hémostatique réalisée sur le sang humain en tube et sur lame avec les extraits aqueux et organiques a donné des résultats positifs. L'extrait butanolique a été le plus actif au cours de ce test en réduisant de moitié le temps de coagulation du sang sur lame et de 2/3 en tube. L'activité hémostatique de *Fagara zanthoxyloïdes* peut être due à la présence de flavonoïdes présents dans les extraits de la poudre d'écorces de racines de la plante (Kosuge *et al*, 1985). D'autres tests plus approfondis doivent être envisagés par le DMT pour une confirmation de l'activité hémostatique de *Fagara zanthoxyloïdes*.

Nous avons réalisé le test antifongique sur des plaques CCM à l'aide de la méthode biographique. Les extraits éther de pétrole, dichlorométhane et méthanolique de *Fagara zanthoxyloïdes* ont réagi positivement. L'extrait éther de pétrole a considérablement inhibé la croissance des souches de *Candida albicans*, levure responsable de mycoses chez l'homme, au niveau de la substance dont le Rf = 0.5. Quant à l'extrait dichlorométhane, il l'a inhibée au niveau de la substance correspondant au Rf = 0,68. Les substances qui ont inhibé la croissance de *Candida albicans* possèdent les mêmes Rf que celles qui ont été révélées par le réactif de Dragendorff. Selon Schaller en 1999, l'activité antifongique peut être due à la présence des alcaloïdes présents dans la plante.

Les différents résultats obtenus montrent que les principes actifs anti-inflammatoires, antalgiques, hémostatiques, antioxydants et antifongiques présents dans la plante sont hydrosolubles; ce qui valide la forme traditionnelle d'utilisation de *Fagara zanthoxyloïdes* dans le traitement des affections courantes.

# CONCLUSION



# CONCLUSION

L'utilisation des plantes est une nécessité vitale pour les pays en voie de développement. Notre travail qui a consisté à étudier les activités biologiques ainsi que la toxicité aiguë de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. s'est déroulé au cours de l'année 2001-2002 au laboratoire du Département de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique du Mali.

Le pourcentage de la décoction a été de 12%. Les rendements des extraits organiques de *Fagara zanthoxyloïdes* ont été de 12%, 4%, 4%, 6%, et 8% respectivement pour l'acétate d'éthyle, le butanol, l'éther de pétrole, le dichlorométhane et le méthanol. L'extraction du résidu épuisé par les solvants organiques à la température de 50°C et 100°C a été respectivement de 9,2% et 4,8%.

1,8% des substances des racines de *Fagara zanthoxyloïdes* sont extractibles par macération à l'eau.

Nos travaux ont montré que les extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* n'étaient pas toxiques *per os* à la dose de 5 g/kg de même par voie *ip* à 1 g/kg.

Au cours des tests biologiques, les extraits aqueux et organiques de *Fagara zanthoxyloïdes* ont donné des résultats positifs.

Nous avons obtenu une bonne activité antioxydante et hémostatique avec les extraits butanoliques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*.

Les effets antalgiques et anti-inflammatoires des extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* ont été dose-dépendants. Aux doses de 1500 mg/kg d'extraits aqueux, nous avons obtenu respectivement 53% et 52% de la suppression de la douleur et de l'inflammation.

La meilleure activité fongicide contre *Candida albicans*, levure responsable de mycoses chez l'homme, a été obtenue avec l'extrait éther de pétrole.

Les résultats obtenues peuvent justifier l'utilisation traditionnelle de *Fagara zanthoxyloïdes* en milieu rural.

Il serait intéressant de tester l'activité des fractions chromatographiées et isoler les molécules qui sous-tendent ces différentes activités comme cela a été fait pour les antifongiques; et aussi définir les normes de standardisation des extraits.

Nous espérons par ce travail avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle et une meilleure connaissance scientifique de l'utilisation de *Fagara zanthoxyloïdes* dans le traitement des affections courantes.

Nous ne pouvons terminer ce travail sans lancer un vibrant appel aux hommes pour la préservation de la nature car une valorisation de nos résultats passe par une récolte importante de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*. Il est donc nécessaire d'envisager sa culture.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Adjanohoun, E., Alyi, A.M., Aké Assi, L., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzanza, A., Eymé, J., Gondoté, E., Kéita, A., Mbemba, C., Mollet, J., *et coll.* (1986). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Bénin. ACCT éd., Paris 103p.

Adjanohoun, E. Alyi, A.M., Aké Assi, L., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzanza, A., Eymé, J., Gondoté, E., Kéita, A., Mbemba, C., Mollet, J., *et coll.* (1985). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Congo. ACCT éd., Paris 97p.

Adjanohoun, E., Alyi, A.M., Aké Assi, L., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzanza, A., Eymé, J., Gondoté, E., Kéita, A., Mbemba, C., Mollet, J., *et coll.* (1979). Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Centre National de Floristique, Université d'Abidjan éd. Abidjan, 122p.

Adjanohoun, E., Alyi, A.M., Aké Assi, L., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzanza, A., Eymé, J., Gondoté, E., Kéita, A., Mbemba, C., Mollet, J., *et coll.* (1981). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. ACCT éd., Paris, 105p

Adjanohoun, E., Alyi, A.M., Aké Assi, L., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzanza, A., Eymé, J., Gondoté, E., Kéita, A., Mbemba, C., Mollet, J., *et coll.* (1986). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. ACCT éd., Paris, 134p

Adjanouhoun, E., Alyi, A.M., Aké Assi, L., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzanza, A., Eymé, J., Gondoté, E., Kéita, A., Mbemba, C., Mollet, J., *et coll.* (1985). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. ACCT éd., Paris 206p.

Ahmed, M.S., Ainley, K., Parish, J.H. et Hadi, S.M. (1992). Free radical-induced fragmentation of proteins by quercetin. *Carcinogenesis. Fitoterapia*, 25-29.

Anderson, C.M., Hallberg, A et Hogberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* **28**, 65-180.

Bagayoko, M. (2001). Etude botanique et phytochimique de trois plantes médicinales en vue de la production d'un médicament traditionnel amélioré (MTA). Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 105p.

Bani, S. Kaul, A., Jaggi, B.S., Suri, K.A., Sharma, O.P. and Suri, O.P. (2000). Antinflammatory activity of the hydrosoluble fraction of *Euphorbia royleana* Latex. *Fitoterapia*, **71**, 655 - 662.

Bayes, M. (1997). Contribution à l'activité anti-inflammatoire de la pulpe de *Balanites aegyptica* L. (Zygophyllaceae). Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 67p.

- Bernard, J., Levy, J.P., Varet, B., Clauvel, J.P., Rain, J.D., Sultan, Y. (1996). Abrégé d'hématologie. Ed. Masson, Paris, 293-311.
- Bors. W., Hheller, W., Michel, C., et Saran, M. (1990). Flavonoides as antioxidant determination of radical - scavenging efficiencies. *Methods enzymol.* **186**, 343-355.
- Cavin, A. (1999). Investigations phytochimiques des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. *Tinospora crisp (Menispermaceae)*, *Merremia emarginata (Convolvulaceae)* et *Orophea enneandra (Annonaceae)*. Thèse, doctorat, Lausanne, 243p.
- Campos, A.R., Albuquerque, F.A., Rao, V.S., Maciel, M.A. and Pinto, A.C. (2002). Investigations on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* in mice. *Fitoterapia*, **73**, 116 - 120.
- Chevalley, I. (2000). Contribution à l'étude phytochimique des Saxifracées : isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse, doctorat, Lausanne, 175p.
- Colo, M. (1972). Notions et techniques de pharmacologie générales. Ed. Masson et Cie, Paris.231p.
- Comoe, J.P. (1988). Effect of fagaronine on cell cycle progression of human erythroleukemia K562 cell lenle ress., *Fitoterapia* **8**, 7, 667.
- Cuisinier-Raynal, J., Ferrus, F., Ducorps, M. (1983). Aspects actuels de la maladie drépanocytaire. *Médecine et Armées* **11**, 121.
- Dembele, K. (1993). Contribution à l'étude du traitement traditionnel des inflammations au Mali. Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 118p.
- Diallo, D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinale plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae). *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse, doctorat, Lausanne, Suisse, 221p.
- Diarra, B. (1989). Contribution à l'étude de l'activité inhibitrice *in vitro* de quelques essences médicinales au Mali sur *Candida albicans*. Thèse pharmacie, Bamako, 78p.
- Elizabeth, M., Okpako, D., Evans, F.J. (1996). Anti-inflammatory and analgesic activity. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. pharmacological methods in phytotherapy research . Ed Wiley, Engand, 131-154.
- Fadulu, S.O. (1975). The antibacterial properties of the buffer extracts of chewing sticks used in Nigeria. *Planta med* **27**, 2,122.
- Formica, J.V. et Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food chem. Toxicol.* **33**, 1061-1080.

- Godin, P. (1954). A new spray reagent for paper chromatography of polyols and cetoses. *Nature*, **154**, 134.
- Guissou, I.P. (1990). Etudes de l'efficacité antidrépanocytaire des gélules de Faca chez les enfants en milieu hospitalier de Ouaga (CHN-Yo). *Rev. Cames*, **7**, 15.
- Gutman, R.L. et Ryn, B.H. (1996). Rediscovering tea herbal. *Gram* **37**, 33-42.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu. Rev. Nutr.* **16**, 33-50.
- Harbone, J.B., Baxter, H. (1993). A handbook of bioactive compounds from plants. *Phytochemical dictionary*. Francis LTD, 449.
- Headings, V.E., Abu, S., Anyaire, S., Castro, O. (1976). Characteristics of the antisickling activity of *Fagara zanthoxyloïdes* extract proceedings of the International Conference on sickle cell disease : a world problem. Howard University. *Center for sickle cell disease* **163**.
- Hegnauer, R. (1969). Chemotaxonomie der Pflanzen. Ed. Birkhäuser Verlag, *Basel und Stuttgart*, **3**.
- Hermann, D. (1992). Free medical reactions in aging and disease drug. *News perspectives* **5**, 461-466.
- Honig, G.R., Vida, L.N., Ferenc, C. (1978). Effects *in vitro* of the proposed antisickling agent D.B.A. *Nature*, **272**, 833.
- Hoodage, H.C., Sterner, J.H. (1943). Combined tabulation of toxicity class in handbook of toxicology. Ed. Williams. *Phyladelphy*, **1**, 4.
- Hostettman, K. and Potterat, O. (1995). Plant sources of natural drugs and compounds. *Encyclopedia of environmental Biology* **3**, 139-153.
- Huang, M.T. et Ferraro, T. (1991). Phenolic compound in food and cancer prevention. Phenolic compounds in food and their effects on health. Vol **3**. 83P.
- Hutchison et Dakiel. (1988). Etude pharmacognosique et botanique de *Fagara longepedunculata*. *Fres. Revue Carcia de hortat*, **6**, 304-345.
- Isaacs-Sodeye, W.A., Sofowara, E.A., Williaws, A.O., Marquis, V.O., Adekunle, A, Anderson, C.O. (1975). Extract of *Fagara zanthoxyloïdes* root in sickle cell anemia. Toxicology and preliminary clinical trials. *Acta haematol*, **33**, 3, 158p.
- Ishida, H., Umino.T., Tsuji, K. et Kosuge, T. (1987). Chinese medicinal plants. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 857.

- Ishida, H., Umino.T., Tsuji, K. and Kosuge, T. (1987). Chinese medicinal plants. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 861.
- Jang, M., Liing, C., Udeani, G.O., Slowing, K.V. et Pezzuto, J.M. (1997). Cancer chemiopreventive activity of resveratrol. *A natural product derivated from grapes science* **275**, 218-220.
- Kanta, F.B., (2000). Etude de l'activité anticandidosique de certaines plantes médicinales maliennes sur *Candida albicans*. Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 81p.
- Keita, A., Coppo, P., Aké, A.L., Diakité, C., Diallo, D., Diarra, N., Koné, N., Pisani, L., Tapo, M., Wallet, O.F. (1993). Plantes et remèdes du plateau Dogon. Ed. CRMT/PSMTM, Bandiagara, Pergia, Italie.156p.
- Kerharo, J. et Adams, G. (1974). Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et tropiques. Editions Vigot Frères, Paris, 1011p.
- Kerharo, J., Bouquet, A. (1950). Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire, Haute-Volta. Ed. Vigot Frères, Paris, 203p.
- Khalid, S. A., Farouck, A., Geavy, T.G., Jensen, J.B. (1986). Potential antimalarial candidates from African plants : an *in vitro* approach using *Plasmodium falciparum*. *Ethnopharmacology* **15**, 201-209.
- Koné-Bamba, D., Pelessier, Y., Ozoukou. Z., and Kouao, D. (1987). Plantes Médicinales de la Côte d'Ivoires. *Phytother* **10**, 5,122.
- Kosuge, T., Ishida, H., Yokota, M and Yoshida, M. (1984). China medicinal plants. *Chem. Pharm. Bull* **32**, 4478.
- Kosuge, T., Ishida, H. and Satoh, T. (1985). Chinese medicinal plants. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 202.
- Krinsky, N.I., (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free rad. Biol. Med.* **7**, 617-635.
- Kubo, I., Masumoto, T., Klocke, J.A., Kamikawa, T. (1984). Molluscicidal and insecticidal activities of isobutylamides isoled from *Fagara macrophylla*. *Experientia* **40**, 340-341.
- Kurt, R. (1971). Chromatographie sur couche mince traduit de l'allemand par Nguyendan. Edition **2**. Gautier, Villars.121p.
- Larson, R., (1995). Antioxidant mechanisms of secondary natural products, in oxidative stress and antioxidant defense in biology. Ed. Ahmad, London. 63p.
- Madhavi, D.L., Deshpandle, S., et Salunkhe, D.K. (1996). Food antioxidants technomogical, Toxicological and health perspectives. Marcel Dekker, New york.101p.

- Maïga, M. S. (1989). Les analgésiques non morphiniques et leurs inconvénients: Consommation au Mali. Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 79p.
- Mariko, E., Diallo, D., Doumbia, O., Serano, J., et Castel, J. (2002). Etudes de l'activité antalgique de *Maytenus senegalensis* Lam. *International symposium IOCD*, Bamako, 47p.
- Maugh, T.H. (1981). A new understanding of sickle cell emerges. *Science US*, **211**, 265.
- Metou, G., Faye, B., Richard, T., Lo, I. (1988). Activité anti-inflammatoire chez le rat des écorces de *Sécuridaca longipedunculata* Fres. (Polygalaceae). Médecine traditionnelle et pharmacopée. *Bulletin de liaison* **3**, 41-46.
- Messmer, W.M., Tinwa, M., Fong, H.H.S., Bevelle, C., Farnsworth, N.R., Abraham, D.J., Trojanek, J. (1972). Fagaronine, a new tumor inhibitor isolated from *Fagara zanthoxyloïdes* (Rutacées). *J. Pharm. Sci.*, **61**, 11, 1858.
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., Remacle, J., (1994). Importance of seglutathione peroxydase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical. Biol Med.* **17**, 235-248.
- Moussoki, J. (1983). Etre "drépano" qu'est ce ?. Thèse médecine, Bordeaux, 70p.
- Müller, K. (1992). Freie radicale : Bedeutung in pathophysiologie und therapie. *Dtsch. Apoth. Ztg* **132**, 1473-1482.
- Müller-Kacic, B., Müller, M., Pröbstle, A., Johns, T.A., Bauer, R., Johns, T.A. (1993). Anti-inflammatory activity of *Zanthoxylum chalybeun* extracts and identification of protoberberine and benzophenanthrine alkaloids by GC - MS and HPLC. *Planta medica* **4**, 59-664.
- Neuwinger, H.D. (1996). African ethnobotany, poison and drug. Chemistry - pharmacology toxicology. Ed. Chapman, Germany, 435p.
- Odebiyi, O.O., Sofowara, E.A. (1979). Antimicrobial alkaloïds from a Nigerian chewing stick (*Fagara zanthoxyloïdes*). *Planta med.*, **36**, 9, 204.
- Ohnishi, M., Morishita, H., Iwahashi, H., Toda, S., Shirataki, Y., Kimura, M. et Kido, R. (1994). Inhibitory effects of chlorogenic acids or linoleic peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry* **36**, 579-583.
- Palmer, K.H. (1956). Recherches sur quelques *rutacées* africaines à alcaloïdes du genre *Fagara*. Thèse, pharmacie, Paris. 112p.
- Paris, R., Moyse-Mignon, A. (1947). Etude préliminaire de *Fagara zanthoxyloïdes*. *An. Pharm. Franç.*, **5**, 410.



Potterat, O. (1997). Etude phytochimique de cinq espèces de la famille des Pedaliacées appartenant aux genres *Sasamum*, *Ceratotheca* et *Rogeria*. Thèse, doctorat, Lausanne, 236p.

Rahalison, L., Hamburger, M., Hostettmann, K., Monod, M. and Frenk, E. (1991). A bioautography agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochem analysis* **2**, 199-203.

Rosenthal, M. Vishwanath, B. and Franson, R.C. (1989). Biochim. Biophys. of plants. *Acta* **1001**, 103p.

Sanou, B.D., (1997). Etude de l'activité antifongique sur *Candida albicans* de cinq plantes. Thèse, pharmacie, Bamako, Mali, 92p.

Sato, T., Kawamoto, A., Tamura, A. Tatsumi, Y. and Fujii, T. (1992). Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid and mangiferine (a xanthonoid). Chem. Buckley, J.D. et sporn, M.B. (1981). Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates ? *Nature* **290**, 201-208.

Schaller, F. (1999). Composés antifongiques nouveaux issus de l'investigation phytochimique d'une plante africaine *Bobgunnia madagascariensis* Desv. (Luguminoseae). Thèse doctorat, Lausanne, 299p.

Seelert, K. (1992). Freie radikale und altern, ein alters thema wird neu diskutiert. *Dtsch. Apoth. Ztg* **132**, 2479-2485.

Sies, H. and Stahl, N. (1995). Vitamin E,  $\beta$ -carotene and other carotenoïdes as antioxidant. *Am. J. Clin. Nutr.* **62**, 13-15.

Sofowara, E.A. (1985). Medicine plants and traditional medicine in Africa. Spectrum books limited (Ibada) and John Wiley and Son. *Liyodia* **52**, 220.

Sofowara, E.A. and Isaacs, W.A. (1971). Reversal of sickling and crenation in erythrocytes by the root extract of *Fagara zanthoxyloïdes*. *Lloydia*, **34**, 383.

Sofowara, E.A., Isaacs, W.A., Ogunkoya, L.D. (1975). Isolation and characterisation of an antisickling agent from *Fagara zanthoxyloïdes*. *Lloydia*, **38**, 2, 169.

Stahl, E. (1974). Analyse chromatographique et microscopique des drogues. Edition moderne. Paris. 132-134.

Stamm, I. ( 1984). Au sujet d'une rutacée utilisée en médecine traditionnelle ouest-africaine : *Fagara zanthoxyloïdes*, Thèse pharmacie, Strasbourg, n° 84-314.

Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A. and Sakata, K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Brusci. Brotech-Brochem* **58**, 1780 - 1783.

- Torto, F.G. (1961). An aldobionuronic acid isolated from *Fagara zanthoxyloides*. *J. Chem. Soc.*, **3166**.
- Torto, F.G., Sefcovic, P., Dadson, B.A. (1966). Medicinal plants of Ghana : identify of alkaloid from *Fagara zanthoxyloides*. *Tetra-hedron letter*, **2**, 181.
- Traoré, I. et Nebout Max. (1983). Formules et techniques à partir des matières premières locales concernant la nourriture des souris d'expérimentation en pays tropicaux. *Acta leprologica*, **1**, 3.
- Traoré, I.M. (1998). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement des affections bucco-dentaires. Thèse pharmacie, Bamako, Mali, 77p.
- Traoré, B. (2001). Screening de l'activité biologique de deux espèces de *Tapinanthus* poussant sur *Butyrospermum paradoxum* (Gaertn-F) Hepper (Sapotaceae). Thèse, Pharmacie, Bamako, Mali, 83p.
- Wagner, H., Bladt, S. (1996). A thin layer chromatography. Atlas. Ed. 2, ISBN. England. 162p.
- Weissburger, J.H. (1997). Tea and health : a historical perspective. *Cancer Lett.* **114**, 315-317.
- Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W. (1962). Carraghénine induced oedema in hand paw of the rat as assays for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Experta . Biol. Med.*, **111**, 544-547, Amsterdam.
- Yamasaki, T., Li, L. and Lau, B. H. (1994). Garlic compounds protect vascular endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidant injury. *Phytother. Res.* **8**, 408-412.

# ANNEXE

# ANNEXE

## Annexe 1

### Préparation/application du réactif de Godin :

**Solution A :** solution éthanolique de vanille à 1% + solution d'acide perchlorique à 3%.

**Solution B :** solution éthanolique d'acide sulfurique à 10%.

Gicler la plaque avec le mélange A suivit de la solution B puis chauffer en observant (Godin.,1954).

**Substances détectées :** réactifs polyvalents

## Annexe 2

### Préparation/application du réactif de Dragendorff

**Solution A :** dissoudre 0,85 g de nitrate basique de bismuth, 10 g d'acide tartrique dans 40 ml d'eau.

**Solution B :** dissoudre 16 g d'iodure de potassium dans 40 ml.

Au moment de l'emploi, mélangez 5 ml de solution A + 5 ml de solution B + 20 g d'acide tartrique (Wagner et *al.*, 1996).

**Substances détectées :** tâches oranges qui disparaissent avec le temps

## Annexe 3

### Formule nutritionnelle des souris ayant servi à l'étude

#### pharmacodynamique (Traoré *et al.*, 1983)

- |                             |         |
|-----------------------------|---------|
| - Farine de maïs            | 50 kg   |
| - Pâte d'arachide           | 20 kg   |
| - Son de mil                | 17,5 kg |
| - Lait en poudre            | 7 kg    |
| - Poudre de poisson         | 3 kg    |
| - Feuilles de salade pilées | 2 kg    |
| - Sel de cuisine            | 0,5 kg  |
| - Eau q.s.p                 | 100 kg  |

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**TITRE** : Etudes des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes*  
Lam. (*Rutaceae*)

**Auteur** : Igor Passi Lysette BOSSOKPI  
**Année** : 2002  
**Pays d'origine** : République Centrafricaine  
**Ville de soutenance** : Bamako (Mali)  
**Lieu de dépôt** : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et  
d'Odonto-stomatologie (FMPOS) BP: 1805. Bamako

### RESUME

Notre étude basée sur le dépistage de l'activité biologique des extraits aqueux et organiques de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* a donné des résultats significatifs. La détermination de la toxicité aiguë par voie orale, des extraits aqueux de *Fagara zanthoxyloïdes* a permis d'obtenir une DL<sub>50</sub> supérieure à 5 g/kg; de même, la DL<sub>50</sub> par voie intrapéritonéale est supérieure à 1 g/kg.

L'extrait aqueux d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré un effet dose-dépendant au cours du test antalgique. L'extrait à la dose de 1500 mg/kg a inhibé la douleur de 53% chez les souris de façon comparable à l'effet de l'indométacine.

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* a été également dose-dépendante. L'extrait à la dose de 1500 mg/kg a montré un pourcentage d'inhibition de l'inflammation de 52% chez les souris. Ces résultats montrent que les écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* contiennent un principe actif anti-inflammatoire utile dans le traitement de l'inflammation aiguë.

Tous les extraits de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* ont réagi positivement au test hémostatique aux doses de 10µg. L'extrait butanolique a été le plus actif en réduisant de moitié le temps de coagulation du sang sur lame et de 2/3 en tube.

L'extrait butanolique de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes*, à la dose de 100µl, a été très actif au cours du test de l'activité antioxydante.

L'extrait éther de pétrole de la poudre d'écorces de racines de *Fagara zanthoxyloïdes* a montré une bonne activité fongicide aux doses de 100µg et 300 µg contre *Candida albicans*, levure responsable de mycoses chez l'homme.

**Mots clés** : *Fagara zanthoxyloïdes* - Extraction - Criblage - Antioxydant - Antifongique - Antalgique - Hémostatique - Anti-inflammatoire - Toxicité aiguë.

# **ABSTRACT**

Our study based on the tracking of the biological activity of the aqueous and organic extracts of the powder of barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* gave significant results. The determination of acute toxicity by oral way, of the aqueous extracts of *Fagara zanthoxyloïdes* allowed to obtain a DL<sub>50</sub> higher than 5 g/kg; in the same, the DL<sub>50</sub> by way intra-peritoneal is higher than 1 g/kg.

The aqueous extract of barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* showed a dose-dependent effect during the antalgic test. The extract with the dose of 1500 mg/kg inhibited the pain of 53% in the mice of way comparable with the effect of the indometacin. The anti-inflammatory drug activity of the aqueous extracts of barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* was also dose-dependent. The extract with the dose of 1500 mg/kg showed a percentage of inhibition of the inflammation of 52% in the mice. These results show that the barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* contain an active ingredient useful anti-inflammatory drug in the treatment of the acute inflammation.

All the extracts of barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* reacted positively to the haemostatic test with the dose of 10µg. The extract butanolic was most active by reducing half time of coagulation of blood on blade and 2/3 out of tube.

The extract butanolic of barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* to the dose of 100µg was very active during the test of the antioxidant activity.

The extract ether petroleum of the powder of barks of roots of *Fagara zanthoxyloïdes* showed a good antifungal activity with the dose of 100µg and 300µg against *Candida albicans*, yeast responsible for mycoses at the man. These various biological activities obtained can explain the traditional use of *Fagara zanthoxyloïdes* in the treatment of the oral affections.

**Key-words** : *Fagara zanthoxyloïdes* - Extraction - Screening - Antioxidant - Antifungal - Antalgic - Hemostatic - Anti-inflammatory - Acute toxicity

# **SERMENT DE GALIEN**

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

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

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

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

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

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

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

**Je le jure.**