

MINISTERE DE L'EDUCATION

UNIVERSITE DE BAMAKO

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

Faculté de Médecine de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie
(F.M.P.O.S)

Année académique : 2002 - 2003

N°.....

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE
DE 5 RECETTES TRADITIONNELLES UTILISEES DANS
LE TRAITEMENT DES INFECTIONS URINAIRES ET DE
LA CYSTITE

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement le...décembre 2003

devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

par

Colette EKOUMOU

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

Jury

Président :

Professeur Abdoulaye Ag RHALY

Membre :

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Co-Directeur de thèse :

Docteur Drissa DIALLO

Directrice de Thèse :

Docteur

Rokia

SANOGO

DEDICACES

A notre Seigneur Dieu Tout Puissant, Psaume 23

Je dédie ce travail à :

Mes parents

Monsieur EKOUMOU Raymond et Madame EKOUMOU Madeleine
Vous m'avez donné le jour et vous m'avez accompagné dans mes premiers pas. Aujourd'hui, je suis le fruit de vos efforts et de toute votre attention. Soyez infiniment remerciés. Sachez que je vous aime profondément et que je vous suis reconnaissante. Que le Seigneur Dieu vous donne longue vie.

Mes frères et sœurs :

Julie Sandrine, Huguette, Ariel, Syre, Adeline, Muriel, Razielle
Vous êtes l'une de mes principales raisons de vivre.

Mes neveux et nièces

Mes cousins et cousines

Mes oncles et tantes

Mes grands parents (Paix aux âmes des disparus)

Monsieur Chen Sylvestre MEZUI OBIANG et sa famille : Tu a été plus qu'un amour pour moi, tu a été un guide, un père spirituel. Puisse le Seigneur nous guider dans la voie qu'il aura choisi pour nous

Tous mes amis d'enfance et du Lycée

Tous ceux qui se rappèleront mon nom

Mon pays, le Cameroun

MENTION SPECIALE

Au Mali et au peuple malien.

Vous m'avez accueilli et accompagné tout au long de mon séjour chez vous. Vous m'avez appris la fraternité, l'unité, l'humilité.
Que Dieu tout puissant protège ce pays et ses habitants, Merci infiniment.

A la communauté camerounaise au Mali.

Grâce à toi, j'ai toujours eu l'impression de n'avoir jamais quitté mon pays.

A l'équipe qui gagne : René Patrick HOUETO, Nathalie AM-MYING
TIDANKIR

Au groupe des sept : Philippe Sorel TAKAM, Dave MOMO BALLA,
Joseph Charles BISSE, Serge KOUONANG K., Annie MAGNY,
Nathalie AM-MYING, Colette EKOUMOU

A la promotion Louis Samuel ETORI (L.S.E)

A la famille gabonaise au Mali (ASSEESGAM)

A la famille SANGARE au Point G

A Madame Rokia TRAORE

REMERCIEMENTS

A mes collègues du DMT

Salamatou AHMET ALASSANE, Nana Mariama CHETIMA, Binta TIMBO, Drissa SANGARE, Boubacar BOUARE, Ange MOUELLET, Reine Raissa.

Au personnel du DMT

Au personnel des sections Bactériologie et Stérilisation de l'INRSP

Au personnel de l'animalerie du CNAM

Au Pharmacien Hyacinthe BOMBAH (Pharmacie de la Brique, Yaoundé)

Au Docteur Drissa DIALLO pour votre soutien et votre disponibilité

Au Docteur Rokia SANOGO et son mari Docteur Sergio GIANI pour votre aide et votre chaleur

Au Docteur Sergio GIANI pour les photos qui illustrent cette thèse

A tous mes enseignants à la Faculté de Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie de Bamako (FMPOS)

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

AUX MEMBRES DU JURY

Professeur Abdoulaye Ag RHALY

Professeur agrégé en Médecine interne

Ancien Directeur Général de l'Institut National de la Recherche en Santé Publique (INRSP)

Ancien Secrétaire Général de l'Organisation de Coordination et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies (OCCGE)

Secrétaire permanent du Comité National d'Ethique pour la Santé et les Sciences de la vie (CNESS)

Vous nous faites honneur en présidant ce jury. Vos grandes qualités humaines font de vous un maître respecté. Les enseignements que nous avons reçu de vous ne représentent qu'une partie du patrimoine vivant que vous représentez.

Recevez cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Maître de Conférence agrégé en Bactériologie-Virologie

Directeur Général de l'Institut National de la Recherche en Santé Publique (INRSP)

Chargé de cours à la FMPOS

Malgré vos multiples occupations vous avez encore une fois manifesté à notre égard votre grande simplicité et votre disponibilité en acceptant de juger ce travail. Nous sommes très honoré d'avoir eu à bénéficier de vos enseignements.

Trouvez ici cher maître, l'expression de notre grand respect.

Docteur Drissa DIALLO

Maître assistant en Pharmacognosie
Chef du Département de Médecine Traditionnelle (DMT)
Chargé de cours à la FMPOS

Les enseignements que nous avons reçu de vous nous honorent. Bien plus qu'un maître pour nous, vous avez su à chaque fois nous encourager et nous apprendre la grandeur d'esprit, l'humilité.
Recevez cher maître le témoignage de notre reconnaissance.

Docteur Rokia SANOGO

PhD. Pharmacognosie

Chargée de cours à la FMPOS

Vous nous avez appris le sens de la rigueur dans le travail. Votre grande bonté, votre générosité, votre disponibilité ainsi que vos qualités intellectuelles nous honorent. Nous vous remercions pour tous vos enseignements. Recevez cher maître toute notre reconnaissance et notre profond respect.

SOMMAIRE

PREMIERE PARTIE	Pages
1. INTRODUCTION	1
2. MOTIVATION	2
3. OBJECTIFS	3
• Objectif général	
• Objectifs spécifiques	
DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX ANTERIEURS	
4. TRAVAUX ANTERIEURS	4
4-1 Les infections urinaires et la cystite	4
4-1-1 Les infections urinaires.....	4
4-1-2 La cystite.....	9
4-2 Les infections à <i>Candida</i>	14
4-3 Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne et antifongique	17
4-3-1 Méthode de disque de diffusion.....	17
4-3-2 Méthode de dilution	18
4-3-3 Méthode bio autographique.....	18
4-4 Les antioxydants	18
4-5 L'activité hémostatique	25
4-6 L'activité antalgique	30
4-6-1 Notion de physiologie de la douleur.....	30
4-6-2 Evaluation de la douleur.....	31
4-6-3 Méthode d'étude de l'activité antalgique.....	33
4-6-4 Les antalgiques.....	34
TROISIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS	
5. TRAVAUX PERSONNELS	36
5-1 METHODOLOGIE	36
5-1-1 La collecte des données	36
5-1-2 Matériels	37
5-1-2-1 Matériel végétal.....	37
5-1-2-2 Matériel animal.....	38
5-1-2-3 Préparation des extraits.....	38
5-1-3 Etudes phytochimiques	41
5-1-3-1 Réactions de caractérisation	41
5-1-3-2 Substances extractibles par l'eau.....	45
5-1-3-3 Dosage de l'eau par la méthode azéotrope.....	45

5-1-3-2 Chromatographie sur couche mince.....	46
5-1-4 Activités biologiques	47
5-1-4-1 Les tests biologiques <i>in vitro</i>	47
• Activité antibactérienne des extraits des 5 recettes.....	47
• Activité antifongique extraits éthanoliques des 5 recettes.....	48
• Activité antioxydante des 5 recettes.....	50
• Activité hémostatique des deux recettes de <i>Stylosanthes erecta</i>	51
• Recherche de constituants provoquant l'hémolyse.....	51
5-1-4-2 Les tests biologiques <i>in vivo</i>	52
Activité analgésique des extraits aqueux des recettes de <i>S. erecta</i>	52
5-2. RESULTATS	56
5-2-1 Cinq recettes utilisées dans les infections urinaires et la cystite	56
5-2-1-1 La composition des recettes.....	56
5-2-1-2 Les plantes des recettes.....	57
5-2-2 Les extraits	84
5-2-3 Données phytochimiques	87
5-2-3-1 Réactions de caractérisation.....	87
5-1-3-2 Substances extractibles par l'eau.....	88
5-1-3-3 Dosage de l'eau par la méthode azéotropique.....	88
5-2-3-2 Chromatographie sur couche mince.....	89
5-2-4 Des activités biologiques	116
5-2-4-1 Les tests biologiques <i>in vitro</i>	116
• Activité antibactérienne des extraits des 5 recettes.....	116
• Activité antifongique extraits éthanoliques des 5 recettes.....	120
• Activité antioxydante des 5 recettes.....	121
• Activité hémostatique des deux recettes de <i>Stylosanthes erecta</i>	126
• Constituants provoquant l'hémolyse.....	126
5-2-4-2 Les tests biologiques <i>in vivo</i>	127
• Activité analgésique des extraits des 2 recettes.....	127
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	128
7. CONCLUSION	134
8. BIBLIOGRAPHIE	135
ANNEXES	142
RESUME	144

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES FORMULES CHIMIQUES

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

DMT: Département de Médecine Traditionnelle

INRSP: Institut National de la Recherche en Santé Publique

CNAM: Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie

ENMP: Ecole National de Médecine et de Pharmacie

MTA: Médicament Traditionnel Amélioré

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

UV: Ultra Violet

H₂SO₄: Acide sulfurique

KOH: Hydroxyde de Potassium

NH₄OH: Ammoniaque

FeCl₃: Trichlorure de Fer

pH: Potentiel d'Hydrogène

AlCl₃: Trichlorure d'Aluminium

MeOH: Méthanol

DMSO: Diméthyl sulfoxyde

DCM: Dichlorométhane

MH: Miller Hinton

N-NE: Nord-Nord est

BAW: Butanol-Acide acétique-Eau

DL₅₀: Dose létale 50

mm: Millimètre

cm: Centimètre

kg: kilogramme

µg: microgramme

µl: microlitre

Rf: Rapport final

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

API 20 E: Appareils et Procédés d'Identification

1. INTRODUCTION.

Le problème des infections urinaires et de la cystite est une préoccupation importante de santé, car ces affections sont très répandues. En effet, l'infection urinaire est par ordre de fréquence la première des maladies infectieuses non épidémiques (Berland et Dussol, 2000). Elles sont plus fréquentes chez les femmes en âge de procréer que chez les hommes où elles surviennent à un âge avancé (Berland et Dussol, 2000; Galand, 2001). Environ 50% des femmes développent au moins une fois une infection symptomatique des voies urinaires dans leur vie (Christiaens et Callewaert, 1999). Elles représentent plus de sept millions de consultations et un million d'hospitalisations aux Etats-Unis (Berland et Dussol, 2000).

Au Mali, une étude réalisée au Laboratoire de Bactériologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) a montré que plus de la moitié des examens réalisés était constituée par l'examen cytot bactériologique des urines (Koumaré, 1980). Le coût du traitement des infections urinaires par les antibiotiques devient sans cesse croissant à cause de l'apparition de nouvelles molécules. De plus, il est difficile pour la majorité des populations d'avoir accès à une structure sanitaire du fait du faible pouvoir d'achat ou de l'éloignement des grandes agglomérations. Aussi, le phénomène de résistance aux antibiotiques est observé de plus en plus pour certains médicaments.

Selon l'OMS, 80% des populations rurales vivant dans les pays en développement sont tributaires de la médecine traditionnelle pour leurs besoins en soins de santé. La flore africaine est très riche en espèces médicinales utilisées pour la traitement des infections urinaires et de la cystite. Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de la Recherche en Santé Publique (INRSP) au Mali, en collaboration avec les tradithérapeutes, réalise des études ethnobotaniques, phytochimiques et pharmacologiques en vue de l'élaboration et de la mise sur le marché des médicaments traditionnels améliorés (MTA), efficaces et à un coût accessible aux populations.

Dans le cadre de notre thèse, nous apporterons une contribution à l'étude de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Pour cela, notre travail sera développé selon le plan suivant:

Dans une première partie nous reportons une série de rappels sur les infections urinaires, la cystite et les différentes méthodes d'études de certaines activités biologiques.

Dans une deuxième partie, nous présentons nos travaux personnels qui portent sur :

1. Les résultats de la recherche bibliographique pour le choix de recettes traditionnelles les plus utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite.
2. Les études expérimentales comprenant un criblage phytochimique et des tests biologiques sur les 5 recettes choisies ;
3. L'étude approfondie des deux recettes retenues sur la base des résultats des études phytochimiques et biologiques.

2. MOTIVATIONS.

- Les infections urinaires et la cystite constituent un problème très courant qui est confronté de plus en plus à la résistance des germes aux antimicrobiens
- Le coût élevé des antimicrobiens modernes pousse de plus en plus les populations vers les traitements traditionnels
- La flore médicinale locale est riche et propose une multitude de recettes traditionnelles à base de plantes ;
- Pour le moment le DMT ne dispose pas de médicaments traditionnels améliorés pour la prise en charge des infections urinaires et la cystite.

3. OBJECTIFS

Objectif général

Evaluer les recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite.

Objectifs spécifiques

1. Identifier 5 recettes à base de plantes utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite ;
2. Proposer une composition pour chaque recette ;
3. Identifier les groupes chimiques présents dans les recettes et les plantes qui les composent ;
4. Déterminer l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits aqueux et éthanoliques des 5 recettes et de plantes qui les composent ;
5. Déterminer l'activité antifongique des extraits éthanoliques des 6 plantes ainsi que celle des 5 recettes ;
6. Sélectionner et approfondir les études des recettes les plus actives ;
7. Déterminer les activités antibactérienne et antioxydante des extraits aqueux et organiques des recettes sélectionnées et les différentes fractions organiques des extraits aqueux et des extraits organiques de ces recettes ;
8. Déterminer l'activité hémostatique des extraits aqueux de ces recettes ;
9. Déterminer l'activité antalgique des extraits aqueux de ces recettes.

4. TRAVAUX ANTERIEURS.

Dans ce chapitre, nous présenterons des rappels sur les infections urinaires, la cystite, les infections à *Candida*, les antioxydants, l'hémostase, la douleur ainsi que les différentes méthodes d'étude des activités biologiques s'y rapportant.

4-1 Les infections urinaires et la cystite

4-1-1 Les infections urinaires

4-1-1-1 Définitions

Les infections urinaires constituent une pathologie fréquente. Elles représentent le deuxième motif de consultation en pathologie infectieuse après les infections pulmonaires (Lobel, 1998).

A l'état normal, les urines sont stériles. Les infections urinaires se traduisent par la présence de germes pathogènes dans l'urine à l'intérieur des voies excrétrices. Elles se définissent à l'aide de critères biologiques: une bactériurie supérieure à 10^5 /ml, une leucocyturie supérieure à $10/\text{mm}^3$ ou 10^4 /ml avec la présence d'au moins 10^5 colonies par ml, qu'il y ait ou non des signes cliniques d'accompagnement (Gonthier et Heritier, 1988).

4-1-1-2 Classification

Cystite aiguë de la femme jeune

Elle se manifeste par une dysurie de début brutal, sans fièvre, avec pollakiurie, impériosités, brûlures mictionnelles, parfois hématurie et douleurs sus-pubiennes. Les urines peuvent être troubles ou malodorantes. Elle peut survenir par épisodes successifs ou être associée à d'autres pathologies.

Infections urinaires compliquées

Il s'agit des infections survenant chez le patient porteur d'anomalie urologique ou l'immunodéprimé et des infections à germes résistants. Les signes peuvent aller de ceux de la cystite à ceux d'une septicémie. Ici, le spectre des micro-organismes en cause est vaste et non prévisible.

Infection urinaire chez l'homme

Le plus souvent, il s'agit de l'adénome de la prostate. Les urétrites et la bilharziose urinaire peuvent aussi être rencontrées. Chez l'homme les infections urinaires sont rares, dues à des anomalies urologiques ou un état d'immunodépression. Cependant des colibacilles peuvent être à l'origine d'infections urinaires basses non compliquées chez l'homme jeune.

Bactériurie asymptomatique

Elle caractérise une uro-culture positive sans aucune manifestation clinique.

- Chez le patient diabétique il y a une prépondérance des colibacilles et autres entérobactéries.
- Chez la femme enceinte les microorganismes sont les mêmes qu'en l'absence de grossesse.
- Chez le sujet âgé, des facteurs comme la démence, l'incapacité physique d'aller aux toilettes, l'incontinence, le prédispose aux infections urinaires. Ici, la bactériurie asymptomatique est associée à une surmortalité.
- Chez le transplanté rénal, les microorganismes sont essentiellement les entérobactéries et les entérocoques.

4-1-1-3 Epidémiologie et facteurs de risque

En dehors de tout sondage, les infections aiguës sont très fréquentes surtout chez les femmes. Elles représentent plus de sept millions de consultations et un million d'hospitalisations annuelles aux Etats-Unis. Ces infections surviennent chez 0.5% des hommes et 1.2% des femmes, 1.5% dans les deux sexes au dessus de 60 ans. A la petite enfance, elles sont plus fréquentes chez le garçon. A l'âge scolaire, les filles sont plus souvent affectées (1 à 3%). Leur incidence croît à l'adolescence avec le début de l'activité sexuelle. Elles sont plus rares chez l'homme avant 50 ans, mais fréquentes chez la femme. (Berland et Dussol, 2000).

Les facteurs de risque liés à l'hôte comportent:

- Les facteurs liés à l'activité sexuelle de la femme: l'existence de traumatisme urétral est fréquente au cours du rapport sexuel. L'utilisation de diaphragmes, de spermicides altèrent la flore vaginale et favorisent la colonisation par des germes uro-pathogènes.
- La grossesse: La relaxation musculaire et la dilatation urétérale qui en résultent facilitent la colonisation ascendante de la vessie au rein.
- Le diabète: Lorsque l'urine contient du glucose, elle constitue un milieu de culture encore plus favorable pour les bactéries Gram négatif.
- L'existence d'anomalies urologiques avec stagnation des urines: obstacle, lithiase, vessie neurologique, reflux vésico-urétéral.

4-1-1-4 Germes responsables

De nombreux micro-organismes peuvent être en cause. Les plus fréquents sont les bacilles Gram négatif avec *Escherichia coli* qui est responsable d'environ 80% des infections aiguës (Fattorusso et Riter, 1990) dont 80% de pyélonéphrites aiguës, 60% de cystites, 30% des bactériuries asymptomatiques (Berland et Dussol, 2000). Les autres germes Gram négatif sont *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*. Les cocci Gram positif jouent un rôle moins important; notamment *Staphylococcus saprophyticus* (staphylocoque coagulase négatif ou staphylocoque blanc) qui est responsable de 10 à 15% des infections urinaires aiguës. Le staphylocoque doré et l'entérocoque sont aussi rencontrés. Les micro-organismes sexuellement transmissibles dont *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea* et *Herpes simplex virus* peuvent être retrouvés. Des parasites tels que *Trichomonas vaginalis* et *Schistosoma haematobium* peuvent être associés à la cystite, de même que des champignons comme *Candida albicans*.

4-1-1-5 Traitement des infections urinaires

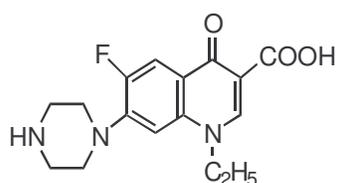
Le traitement est orienté suivant 3 axes principaux:

- La lutte contre l'infection: En fonction du niveau de l'infection il s'agira de mener une antibiothérapie adaptée. Les antibiotiques les plus utilisés sont ceux qui possèdent une élimination urinaire plus lente. Ce sont généralement

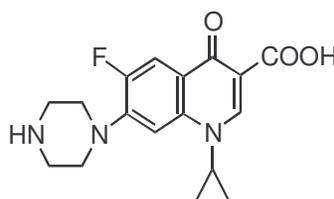
les fluoroquinolones, les céphalosporines de 3^{ème} génération, les aminosides. La durée du traitement dépend de la nature de l'infection; il peut aller de 3 jours pour les cas de cystite aiguë simple à 20 jours dans les cas de pyélonéphrites en absence de récurrence. Selon le terrain une hospitalisation est parfois nécessaire.

- La lutte contre la douleur: Elle se fait par l'utilisation d'antalgiques, d'anti-spasmodiques. L'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens ou de corticoïdes est inutile voire dangereuse.
- La lutte contre la récurrence: Elle nécessite l'application de mesures hygiéniques et diététiques dont la prise de boissons abondantes, les mictions fréquentes, la lutte contre la constipation pour éviter la stagnation et la multiplication des germes.

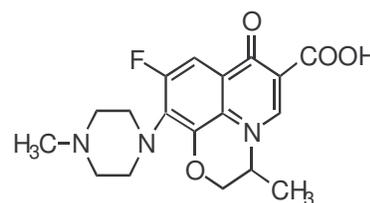
4-1-1-5-1 Exemples de molécules chimiques utilisées dans le traitement des infections urinaires.



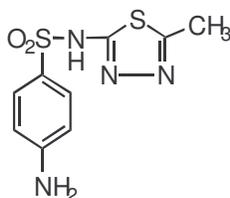
Norfloxacine Noroxine*



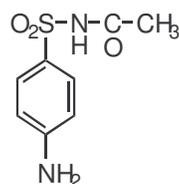
Cyprofloxacine Ciflox*



Ofloxacine Oflocet*



Sulfaméthizole Rufol*



Sulfacétamide Albicid* Antébor*

4-1-1-5-2 Exemples de plantes utilisées dans les infections urinaires.

Tableau n°1: Quelques plantes utilisées dans le traitement des infections urinaires

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Références
<i>Allium sativum</i> L.Gaertn	<i>Liliaceae</i>	Bulbe	Ross,1999
<i>Aloe vera</i> (L).Burn.f	<i>Liliaceae</i>	Feuilles	Ross,1999
<i>Carica papaya</i> L.	<i>Caricaceae</i>	Feuilles	Ross,1999
<i>Mangifera indica</i> L.	<i>Anacardiaceae</i>	Feuilles	Ross,1999
<i>Momordica charantia</i> L.	<i>Cucurbitaceae</i>	Fruits	Ross,1999
<i>Psidium guayava</i> L.	<i>Myrtaceae</i>	Feuilles	Ross,1999
<i>Punica granatum</i> L.	<i>Punicaceae</i>	Fruits	Ross,1999
<i>Tamarindus indica</i> L.	<i>Leguminosae</i>	Fruits	Ross,1999

4-1-1-5-3. Quelques recettes traditionnelles utilisées dans les infections urinaires

Adénome prostatique

- Au Bénin, le suc exprimé de la partie aérienne pilée de *Boerhaavia diffusa* L. (*Nyctaginaceae*) est additionné à une cuillère à café de poudre de *Garcinia kola* Heckel (*Rubiaceae*), le tout mélangé à de la bouillie (ACCT,1983-84).
- *Cucurlogo pilosa* Schum et Thonn (*Amaryllidaceae*), s'emploie en décoction avec la gousse de *Pentaclethra macrophylla* Benth.(*Leguminosae*), des graines de *Monodora myristica* (*Anonaceae*) et une graine d'*Entada gigas* Fawc. Et Rend.(*Leguminosae*) (ACCT,1986).

- Deux verres de latex de *Jatropha curcas* L. (*Euphorbiaceae*) additionnés d'un oeuf de poule sont calcinés pour combattre les urétrites gonococciques au Bénin (ACCT, 1998).

Urétrite

- Au Sénégal, les feuilles et les racines de *Fagara xanthoxyloïdes* Lam. (*Rutaceae*) (ACCT, 1986).
- Aux Comores, une décoction aqueuse de la plante entière et fraîche d'*Euphorbia hirta* L. (*Euphorbiaceae*) est aussi utilisée.

Blennorragie

- Boire une infusion de feuilles de *Cassia sieberiana* qui fait uriner beaucoup (Traoré, 1983).
- Jeter dans une eau miellée en ébullition une pincée de poudre de racines de *Cassia sieberiana* et *Afrormosia laxiflora* Harms (*Leguminosae*) (Traoré, 1983).

4-1-2 La cystite

4-1-2-1 Définitions

La cystite est une inflammation de la paroi de la vessie. Elle témoigne le plus souvent d'une infestation par des germes pathogènes, des bacilles ou plus rarement par un champignon. Elle est beaucoup plus fréquente chez les diabétiques, les femmes jeunes en période d'activité sexuelle et les femmes enceintes. Elle est souvent liée à une maladie gênant l'évacuation vésicale des urines (rétrécissement ou diverticule de l'urètre, calculs vésicaux, tumeurs vésicales) ou à des brides hyménéales entraînant, lors du coït, une inoculation dans l'urètre et la vessie de germes présents dans le vagin. Chez l'homme, elle peut être due à un obstacle prostatique (adénome) (Naudin, 2002).

La cystite se manifeste souvent brutalement par une douleur sus pubienne, des brûlures à la miction, des mictions fréquentes et impérieuses avec émission de seulement quelques gouttes d'urine. Celle-ci est trouble, signe de la présence de pus, malodorante et contient parfois du sang. La température est normale.

4-1-2-2 Classification

Les cystites peuvent être classées de deux manières.

- Selon la fréquence d'apparition et le site

Cystite aiguë simple

Elle survient après un épisode de gastro-entérite (infection intestinale) ou après des rapports sexuels qui créent une turbulence locale.

Cystite récidivante

Elle survient au moins 4 fois dans l'année. L'infection urinaire répétée peut en être la cause. Les anomalies urologiques, lithiase urinaire, reflux vésico-rénal, cystocèle, modification du méat urétral, brides hyménales sont parfois en cause. De même, d'autres circonstances sont recherchées: rôle des rapports sexuels, pratiques d'hygiène vaginale excessive, tampons vaginaux, habitudes vestimentaires, constipation, mictions trop espacées ou boissons insuffisantes, automédications (Lobel, 1998). Après la ménopause, la carence œstrogénique modifie profondément la flore vaginale avec perte des lactobacilles et colonisation par *Escherichia coli* (Berland et Dussol, 2000).

- Selon la cause

Cystite parasitaire

Bilharziose vésicale: Elle est due à *Schistosoma haematobium* dont les œufs se logent dans la vessie et manifeste des signes de cystite. Le parasite pénètre dans l'organisme à travers la peau, puis entraînent des manifestations digestives ou intestinales avant de se loger dans la vessie.

Trichomonose uro-génitale: *Trichomonas vaginalis* peut se loger au niveau de l'appareil urinaire dans la vessie et provoquer des signes de cystite.

Cystite mycosique

Candidose urinaire: *Candida albicans* est une levure qui vit normalement dans le vagin. Elle peut coloniser la vessie par voie ascendante et provoquer des signes de cystite.

Cystite par lésion du voisinage

Elle est observée dans les cas d'annexite, appendicite, urétrite.

Cystite chimiothérapique

Certaines molécules peuvent entraîner au niveau de la vessie des irritations (Cyclophosphamide).

Cystite traumatique

Elle est due à la présence de corps étrangers dans la vessie.

Cystite tumorale

Une tumeur irrite la paroi vésicale.

Cystite nécrosante calcifiée

Elle est rare. Des sels calcaires s'incrustent au niveau de la muqueuse vésicale. L'infection et l'altération de la vascularisation de la paroi vésicale constituent les éléments fondamentaux de la genèse de la nécrose de la muqueuse vésicale (Jemni et coll., 1992).

Cystite emphysémateuse

Elle se caractérise par la formation de gaz dans la paroi ou la lumière vésicale par les agents pathogènes, surtout les bactéries Gram négatif surtout *Escherichia coli*, responsables d'une fermentation bactérienne anaérobie. Elle est favorisée par le diabète et l'infection urinaire chronique (Hamdan et Wagner, 1992).

4-1-2-3 Epidémiologie et facteurs de risque

Selon de nombreux spécialistes, 20 à 30% des femmes adultes présentent un ou plusieurs épisodes de cystites par an (Mintoh, 1999). Ses symptômes représentent chez les femmes 2 à 5% des motifs de consultation du médecin (Christiaens, 1999).

Le principal facteur favorisant reste le rapport sexuel (Lecomte et Libbey, 1999), mais aussi la présence d'un corps étranger dans la vessie (diaphragme, spermicide). Les bactéries responsables des cystites sont le plus souvent les bactéries du tube digestif. En cas de troubles digestifs, ces germes peuvent

envahir la vulve en cas d'hygiène défectueuse. Aussi, l'usage abusif de savons désinfectants, de douches vaginales excessives, ainsi qu'un apport insuffisant de liquide sont aussi des facteurs. Au cours de la grossesse et en cas de diabète, le risque est élevé (Lecomte et Libbey, 1999).

4-1-2-4 Germes responsables

Dans la majorité des cas, l'agent infectieux est un colibacille appelé *Escherichia coli* responsable de 75 à 85% des cas de cystite, *Staphylococcus saprophyticus* 10 à 15%, *Proteus* 5 à 10%. Mais il peut s'agir d'autres germes peu fréquents comme *Klebsiella ssp*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* (Christiaens, 2000). Des parasites à l'origine de la bilharziose urinaire peuvent provoquer des cystites. Plus rarement, *Candida albicans* peut en être responsable (Naudin et Grumbach, 2002). Ces germes et parasites vont enflammer les tissus de surface de la vessie.

4-1-2-5 Traitement de la cystite

- Lutte contre l'infection

Cystite aiguë: Le traitement est court et peut se faire en monodose ou en 3 jours. Les molécules recommandées sont les fluoroquinolones (Noroxine*, Ciflox*, Oflocet*, Enoxor*) sauf chez la femme enceinte, la fosfomycine, Sulfaméthoxazole + triméthoprime (Bactrim*) et la Loméfloxacine sont préférées pour le traitement de 3 jours. Les associations sont inutiles et une évolution favorable peut être observée en 24 ou 72 heures. Chez les patients à risque (diabétiques, immunodéprimés, sujets âgés, femmes enceintes), un traitement de 7 jours est conseillé.

Cystite récidivante: Les antibiotiques prescrits seront adaptés à l'antibiogramme, avec application locale d'œstrogènes chez la femme ménopausée.

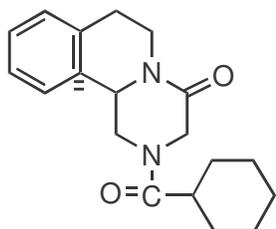
Autres cystites

Dans tous les cas, il faudra éliminer l'agent causal et prescrire une antibiothérapie adaptée. Dans certains cas graves, on a recours à une cystectomie.

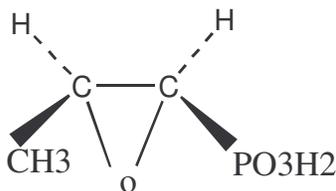
- Mesures hygiéniques et diététiques

Eviter le port de vêtements trop moulants ou synthétiques qui favorisent les phénomènes de macération. Utiliser un savon doux pour la toilette intime. Eviter les produits trop décapants (gel douche et savons désinfectants en particulier). Ne pas utiliser de savon à l'intérieur du vagin, pas plus d'une toilette quotidienne. Eviter les rapports sexuels traumatisants, uriner après chaque rapport sexuel. Eviter les jacuzzis qui sont de bons bouillons de culture microbiens. Boire beaucoup d'eau et éviter la constipation.

4-1-2-6 Exemples de molécules synthétiques utilisées dans le traitement de la cystite.



Praziquantel : Biltricide*



Fosfomycine

4-1-2-7 Exemples de plantes utilisées en cas de cystite

Tableau n° 2: Quelques plantes utilisées dans la cystite

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Référence
<i>Vaccinium macrocarpon</i> L.	<i>Ericaceae</i>	Fruits	Bruneton, 2002

<i>Arctostaphylos uva-ursi</i> L.	<i>Ericaceae</i>	Feuilles	Bruneton, 2002
<i>Tamarindus indica</i> L.	<i>Leguminosae</i>	Fruits	Ross, 1999
<i>Fragaria visca</i> L.	<i>Rosaceae</i>	Feuilles	Valnet, 2001

4-1-2-8. Quelques préparations traditionnelles utilisées en cas de cystite

Bilharziose vésicale

- Macéré d'écorces de *Tamarindus indica*.
- Le décocté de racines de *Cassia sieberiana* pris pendant deux semaines à la posologie de deux louchées chaque matin à jeun et soir est utilisé comme recette antibilharzienne (Sylla, 1991).

Cystite

- Préparer une infusion avec 5 g de chacune des plantes suivantes:

Barosma betulina Bart. et Wendl (*Rutaceae*) (Buchu), *Zea mays* L. (*Gramineae*) (Style de la fleur femelle de maïs), *Althaea officinalis* L. (*Malvaceae*) (guimauve).

- Préparer une infusion avec 5g de *Barosma betulina*, 5g d'*Althaea officinalis* et 5g de *Zea mays* pour 750 ml d'eau. Répartir en 4 doses à boire dans la journée. La première plante est remplacée par *Solidago virgaurea* (*Compositae*) chez la femme enceinte.
- Préparer une décoction avec les baies de *Vaccinium myrtillus* (*Ericaceae*) et boire 3 à 4 tasses par jour (Bruneton, 2002).

4-2 Les infections à *Candida*

4-2-1 Généralités

Les champignons (*fungi*) microscopiques sont les sujets d'affections mycosiques ou mycoses. Ces champignons microscopiques appartiennent au règne végétal, sont ubiquitaires dans la nature (levures, moisissures...), peuvent vivre en saprophytes ou en parasites chez les animaux et l'homme.

Un champignon est défini par une structure filamenteuse ou une forme levure. Ils possèdent une paroi peptidopolysidique épaisse, de composition variable selon ses groupes: cellulose, chitine, mannanes, glucane, protéine, phospholipide et une membrane riche en stérols. Les champignons peuvent être endogènes ou exogènes.

Les champignons endogènes sont représentés essentiellement par le genre *Candida*. Cette levure vit normalement dans le tube digestif de l'homme et de certains animaux. Elle pénètre par la muqueuse du tractus digestif mais peut être occasionnellement introduite par les cathéters. La peau contrairement aux muqueuses, n'est porteuse de *Candida albicans* que dans des conditions pathologiques. Les candidoses sont des mycoses cosmopolites.

Candida albicans peut proliférer lorsque le nombre de bactéries est réduit par les antibiotiques. La flore endogène agit par compétition en accaparant les produits nutritifs ou en produisant des substances inhibitrices telles que les colicines ou des acides (bacille de Doderlein protégeant la muqueuse vaginale d'une prolifération de *Candida*). La pénétration du germe peut être limitée aux cellules épithéliales ou bien être plus profonde. La pénétration tissulaire quant à elle exige des équipements enzymatiques complexes en particulier lorsqu'il s'agit de tissus composés de scléroprotéines comme les épithéliums vaginaux (protéases de *Candida albicans*) (Tolo, 2002).

4-2-2 Classification

■ Candidoses oropharyngées et digestives

Les atteintes buccales sont les plus importantes ; elles peuvent se traduire par la perlèche ou un muguet, souvent associé à une glossite.

■ Candidoses génitales

Il s'agit de la balanite chez l'homme et de la vulvo-vaginite chez la femme. Les facteurs favorisants peuvent être: diabète, grossesse, contraception orale, la voie vénérienne.

■ Candidoses cutanées

Il peut s'agir de: intertrigo des grands plis cutanés ou des espaces interdigitaux, périonyxis et onyxis candidosiques.

■ Candidoses disséminées

Les localisations sont nombreuses: oculaires, ostéoarticulaires, cardiaques, urinaires, pulmonaires, cérébrales ou septicémiques.

4-2-3 Les antifongiques

Actuellement, les antifongiques utilisés en clinique dans le traitement des infections à *Candida* peuvent être classés en antifongiques systémiques et en antifongiques locaux.

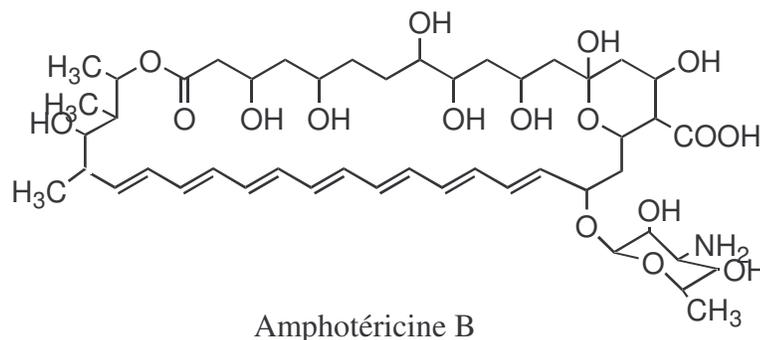
4-2-3-1 Exemples d'antifongiques synthétiques

Antifongiques systémique

- Amphotéricine B : FUNGIZONE
- Flucytosine : ANCOTIL
- Antifongiques imidazolés : Miconazole :DAKTARIN

Antifongiques topiques

- Nystatine : MYCOSTATINE
- Miconazole : DAKTARIN



4-2-3-2 Quelques plantes à activité antifongique

Tableau n° 3: Plantes à activité antifongique

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Références
<i>Boscia senegalensis</i> L.	<i>Caparidaceae</i>	fruits	Diallo, 2000
<i>Burkea africana</i> Hook	<i>Ceasalpiniaceae</i>	Ecorces	Diallo, 2000
<i>Cussonia barteri</i> Sims	<i>Araliaceae</i>	Racines	Diallo, 2000
<i>Detarium senegalensis</i> G. mel.	<i>Ceasalpiniaceae</i>	Racines	Kanta, 2000
<i>Diospyros abyssinica</i> Hiern	<i>Ebenaceae</i>	Racines	Diallo, 2000
<i>Fagara xanthoxyloides</i> L	<i>Rutaceae</i>	Racines	Bossokpi, 2002
<i>Lannea velutina</i> Rich	<i>Anacardiaceae</i>	Feuilles	Diallo, 2000
<i>Parkia bliglobosa</i> Benth	<i>Mimosaceae</i>	Ecorces de tronc	Kanta, 2000
<i>Stylosanthes mucronata</i> Willd	<i>Leguminoseae</i>	Plante entière	Kerharo et Adams, 1974
<i>Ximenia americana</i> L.	<i>Olacaceae</i>	Racines	Kanta, 2000

4-3 Antibiotiques et antifongiques : méthodes d'étude

Les méthodes d'étude des activités antibactérienne et antifongique sont souvent les mêmes. Dans notre cas nous ferons allusion aux méthodes *in vitro*.

4-3-1 Méthode de diffusion

Elle consiste en l'identification d'une substance agissant sur un microorganisme ainsi que la détermination de la concentration minimale inhibitrice nécessaire de

cette substance qui détruit le microorganisme. Les extraits sont déposés sur des petits cylindres de dimensions déterminées (de porcelaine ou d'acier inoxydable ou des disques de papier), qui sont déposés sur de la gélose en boîte de Pétri. Après incubation de 24 heures à l'étuve à 37°C et les zones d'activité apparaissent circulaires sur le fond opaque de la gélose (Sanou, 1997).

4-3-2 Méthode de dilution

C'est l'incubation d'un milieu de culture avec une dilution de doses croissantes des solutions à tester. Dans des tubes à essai stériles contenant d'une part une solution étalon d'activité connue, d'autre part la solution à titrer. On ajoute un volume constant d'un milieu nutritifensemencé avec un germe déterminé. La présence ou l'absence de culture dans le tube est observée après un passage de trois à quatre heures au bain-marie à la température de 37°C. L'inhibition se traduit par l'absence de culture visible dans les tubes (Sanou, 1997).

4-3-3 Méthode bioautographique

Elle consiste à la dilution rapide des substances antimicrobiennes ainsi qu'à l'isolement des constituants actifs à travers une cible. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de microorganismes. Après une incubation pendant 24 heures à 37°C un révélateur approprié permet d'observer l'activité (Keita, 2002).

4-4 Les antioxydants

4-4-1 Généralités sur les antioxydants

L'oxygène est la source de toute vie pour les organismes anaérobies. Ces organismes utilisent l'oxygène moléculaire (O₂) pour oxyder les hydrates de carbone, les protéines, les graisses et produire principalement du CO₂, H₂O et de l'énergie nécessaire au processus de la vie. Cependant, l'oxygène est également une source d'agression pour tous les êtres vivants car, sous l'action des rayons UV, des radiations ionisantes, de métaux de transition et au cours de diverses réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène

apparaissent. Ce sont: l'oxygène singlet $1'O_2$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical superoxyde O_2 , les peroxyde alkyles $ROOH$ et les radicaux hydroxyles HO , peroxydes ROO et alkoxydes RO . Ils sont appelés espèces réactives de l'oxygène et sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries ou les virus. Mais elles possèdent une action sur les structures biologiques des cellules (protéines, lipides, DNA) au cours de nombreuses pathologies parmi lesquelles l'athérosclérose, l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, le mongolisme, et la neuro-dégénération.

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. Bien que le terme radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres. Les radicaux libres constituent cependant une cible particulièrement prometteuse pour améliorer les traitements thérapeutiques à différents stades pathologiques.

Un antioxydant se définit comme 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. Lorsque les espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Il s'agira principalement d'enzymes comme la superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faibles masses moléculaires telles que le tripeptide glutathion ou l'acide urique.

4-4-2 Les sources d'antioxydants

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

4-4-2-1 Les médicaments

Plusieurs agents thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les β -bloquants et antihypertensifs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes.

Le Probucol par exemple est un médicament qui en plus de ses effets reconnus dans la baisse du taux sanguin de cholestérol, prévient l'athérogenèse en agissant comme un antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL).

4-4-2-2 La source alimentaire

L'organisme utilise les substances ingérées comme antioxydants. Les principaux antioxydants sont:

- La vitamine C ou acide ascorbique: C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, le persil, les agrumes.
- La vitamine E ou tocophérol: prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxytes. Elle est retrouvée dans les huiles végétales (huile d'arachide, de soja, de palme, de maïs, 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 β -carotène: Il possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, le potiron, la papaye et d'autres fruits jaunes (Tolo, 2002).

4-4-2-3 Une source particulière d'antioxydants naturels: la plante

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante.

Les flavonoïdes

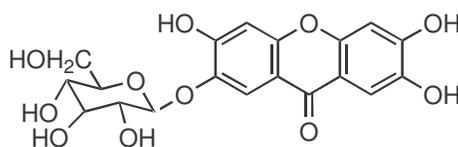
Les flavonoïdes constituent un groupe de métabolites secondaires les plus répandus parmi les plantes, et par conséquent également un des groupes plus étudiés. Ils sont retrouvés dans presque toutes les parties de la plante à différentes concentrations où ils jouent un rôle déterminant dans le système de

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

Les flavonoïdes sont également très intéressants du point de vue médical car ils sont associés à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoire, antihépatotoxique, antitumorale, antihypertensive, antithrombique, antibactérienne, antivirale, antiallergique, antioxydante (Bossokpi, 2002). Cependant, les flavonoïdes peuvent avoir des effets pro-oxydants sur les protéines et sur la peroxydation des lipides et sur le DNA (Aouissa, 2002).

Les xanthones

Leurs propriétés pharmacologiques reconnues sont l'inhibition de la monoamine-oxydase, leurs activités antimicrobiennes et leurs cytotoxicités. Cependant des études sur la mangiférine ont démontré que ces polyphénols possèdent également de très intéressantes propriétés d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions superoxyde.



Mangiférine

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.

Les caroténoïdes

Ce sont des constituants membranaires des chloroplastes. Ils forment un groupe de pigments liposolubles et contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge

des fruits et légumes. Ils sont retrouvés souvent dans les plantes alimentaires. Le β -carotène est le caroténoïde le plus abondant dans la nourriture et il semblerait qu'il diminue les risques de certains cancers. Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxy et alcoyles en capturant les radicaux libres.

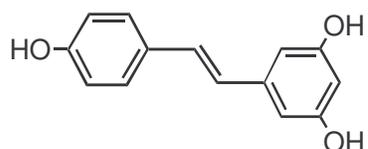
Dérivés d'acides phénoliques et divers composés phénoliques

Le nombre de publications concernant l'activité antioxydante des acides phénoliques et de leurs dérivés est considérable. La plupart de ces composés sont des dérivés de l'acide hydroxycinnamique, plus exactement des dérivés des acides coumarique, caféique, férulique et chlorogénique. Ils sont présents dans de nombreux fruits et légumes soit sous formes libres soit sous formes de dérivés. On le retrouve principalement dans le café, les prunes, les myrtilles, les pêches, le raisin et les pommes. 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*. Ces composés possèdent également des activités antioxydantes et antiradicalaires. Ainsi, l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique captent non seulement les radicaux superoxydes produits par le système NADPH par méthosulfate de phénazin, mais présentent en plus de fortes activités antioxydantes et antiradicalaires envers le radical DPPH.

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'autooxydation de l'acide linoléique et la peroxydation lipidique microsomale. Il présente également une inhibition de la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les

mitochondries et possède une forte capacité de capter le radical libre DPPH (Potterat, 1997).

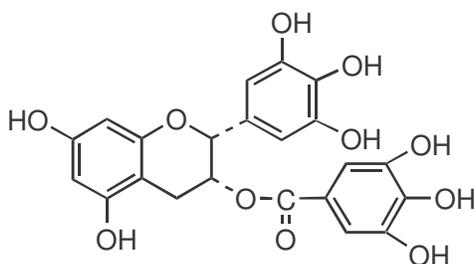
Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est bientôt le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin, possède de fortes propriétés antioxydantes. Il inhibe également le développement des lésions pré-néoplasiques de la souris et rencontre un certain intérêt en tant qu'agent chimiopréventif potentiel chez l'être humain.



Resvératrol

Les tanins

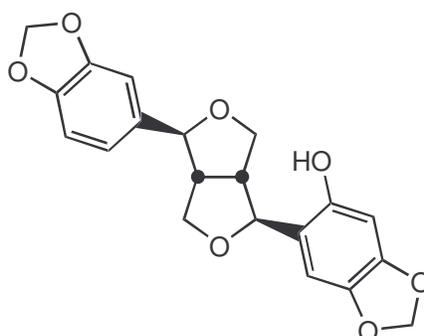
Les tanins hydrolysables et les procyanidines présentent des propriétés antioxydantes significatives. On a pu démontrer qu'ils inhibent aussi bien l'autooxydation de l'acide ascorbique et du linoléate que la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Les tanins agissent en donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Des radicaux tanniques 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 (*Camelia sinensis* O.Kuntze, *Theaceae*). Les effets bénéfiques des polyphénols du thé vert, particulièrement le gallate d'épigallocatechine, sont attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leurs capacités de capter des radicaux libres. Ces substances présentent également des propriétés anticancéreuses non négligeables. De nombreuses études ont démontré, suite à des administrations d'extrait de thé vert, une diminution significative des cancers. Les polyphénols du thé vert ont aussi montré des propriétés antimutagènes.



Gallate d'épigalocatéchine

Les lignanes

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leurs activités antioxydantes sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame (*Sesamum, indicum* DC., Pedaliaceae). La forte résistance à la détérioration oxydative de l'huile de sésame a suscité depuis plusieurs années de nombreuses recherches sur les graines de sésame. Les lignanes diarylfuranofuraniques tels que le sésaminol ont démontré des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de cette huile. Aujourd'hui, on recense plusieurs publications sur l'activité antioxydante des lignanes.



Sésaminol

4-4-3 Méthodes d'étude des antioxydants

4-4-3-1 Test de réduction du DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical stable et présente une absorption spécifique à 517 nm qui confère une couleur violette. Lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux, sa couleur disparaît (Chevalley, 2000).

L'activité de substances anti-radicalaires est mise en évidence par la révélation sur des chromatogrammes de tâches décolorées sur un fond violet à l'aide du DPPH.

4-4-3-2 Test mesurant l'activité oxydante au moyen de caroténoïdes

Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique de β -carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de celle-ci. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances colorées en jaune car elles peuvent donner des faux positifs (Tolo, 2002).

4-4-3-3 Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome

Il consiste en l'oxydation des lysosomes par le 2,2-azobis,2-amidinopropène (Bossokpi, 2002).

4-5 L'hémostase

4-5-1 Généralités

La survenue d'une plaie vasculaire entraîne un mécanisme de défense qui lutte contre l'issue du sang hors du système vasculaire et selon le cas il pourra se traduire par:

- L'hémostase primaire (plaie de vaisseaux capillaires)
- La coagulation plasmatique (vaisseau de gros calibre)
- La fibrinolyse (dissolution du caillot qui constitue un obstacle à la libre circulation vasculaire)

4-5-2 L'hémostase primaire

Elle aboutit à la formation du "clou plaquettaire".

4-5-2-1 Facteurs de l'hémostase primaire

Ce sont:

- le vaisseau et les constituants de la paroi vasculaire (essentiellement la couche immédiatement sous-jacente à l'endothélium et formée notamment de collagène)
- les plaquettes (particulièrement la glycoprotéine de la membrane (GPI) qui est le récepteur du facteur Willebrand
- les glycoprotéines plasmatiques: fibrinogène et facteur de Willebrand.

4-5-2-2 Etapes de l'hémostase primaire

- La rétraction du vaisseau lésé pouvant aller jusqu'à 40% de sa taille initiale.
- L'adhésion des plaquettes au sous endothélium
- La sécrétion plaquettaire au cours de laquelle il y a le phénomène du "changement de forme". Des pseudopodes se forment vers l'extérieur, en même temps que les microtubules se disposent en couronne et se contractent.
- L'agrégation plaquettaire: Les plaquettes s'accrochent entre elles sous l'influence de l'ADP et de divers autres facteurs qui agissent par des mécanismes légèrement différents.

4-5-2-3 Exploration de l'hémostase primaire

Temps de saignement :

Test d'IVY incision: C'est une incision de dimensions constantes sous pression constante, faite à l'avant-bras. Il est pathologique à 10 minutes.

Test d'IVY 3 points. C'est la mesure de l'hémoglobine perdue. L'incision se fait sur trois points. Il est pathologique après 6 minutes.

Test de Duke: L'incision se fait sur le lobe de l'oreille et un chronomètre mesure le temps. Il est pathologique après 5 minutes.

4-5-3 La coagulation

C'est un phénomène par lequel le sang fluide et circulant se transforme en une masse insoluble et immobile (caillot). Il est lié à la transformation d'une protéine soluble à l'état normal, le fibrinogène, en une masse insoluble, la fibrine. Cette transformation a lieu après une série de réactions enzymatiques faisant intervenir de nombreux facteurs tant plasmatiques que plaquettaires.

4-5-3-1 Etapes de la coagulation

Il est impossible de séparer l'hémostase primaire de la coagulation puisque la plupart des étapes de la coagulation se produisent à la surface des plaquettes qui participent de façon active à la formation de la thrombine. Nous pouvons distinguer:

- La fibrinofomation qui est la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble.
- La thrombinofomation avec la transformation d'un précurseur inactif la prothrombine en thrombine.
- L'activation du facteur X qui devient le facteur X activé (Xa). Toute la coagulation est sous la dépendance de cet enzyme-clé. Elle peut se faire par deux voies: la voie d'urgence et la voie longue.

4-5-3-2 Exploration de la coagulation

Le temps de céphaline kaolin (TCK) qui représente le temps de "recalcification du plasma" déclenché par l'addition du calcium en présence d'un substitut phospholipidique (remplaçant la membrane plaquettaire) et d'un activateur de la phase contact, le kaolin ou la celite qui permettent l'activation uniforme du facteur Hageman.

Le temps de Quick. C'est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes en présence de thromboplastine calcique à 37°C.

Le temps de coagulation: Il consiste à prélever le sang dans un tube sans anticoagulant et à observer le temps au bout duquel il coagule. Il est normalement de 8 à 12 minutes à 37°C.

4-5-4 La fibrinolyse

La cicatrisation terminée, le caillot est dissout par un mécanisme enzymatique. Au cours de la fibrinolyse, il y a intervention des facteurs suivants:

- Le plasminogène se transforme en plasmine par des activateurs de différentes origines.

- L'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) synthétisé par la cellule endothéliale des veines et des artères et libéré en petite quantité dans la circulation (complexé avec son inhibiteur spécifique, le PAI).
- Le facteur Hageman capable d'activer le plasminogène en présence d'un cofacteur (facteur Fletcher ou prékallikréine).
- L'urokinase (UK) puissant activateur du plasminogène.

4-5-4-1 Exploration biologique d'une fibrinolyse

- Redissolution spontanée d'un caillot de sang total en 36 à 72 heures.
- Redissolution du caillot en englobines en 3 à 6 heures.
- Tests indirects de la fibrinolyse généralisée (Bernard, 1996).

4-5-5 Méthodes d'étude de l'activité hémostatique

Temps de coagulation du sang total selon la méthode de Lee et White (1913)

Du sang veineux est prélevé dans un tube de verre puis réparti entre un tube de contrôle et un tube à analyser . Il s'agit de mesurer le temps au bout duquel le sang se coagule. Trois minutes après le prélèvement le sang est observé toutes les 30 secondes pour observer la coagulation. Ce temps est évalué à l'aide d'un chronomètre pendant que le sang est placé dans un bain-marie à 37°C ou bien déposé sur une lame porte-objets à la température ambiante.

Temps de recalcification du plasma

Le sang est recueilli sur un mélange de Wintrobe desséché ou sur citrate trisodique 0.13M. Le plasma est obtenu à partir du sang centrifugé à haute vitesse en raison de 3600 tours par minute pendant 10 minutes. A 0.2 ml d'extrait à tester et 0.2 ml de plasma placés dans un tube à hémolyse au bain marie à 37°C, on ajoute 0.2 ml de chlorure de calcium 0.005M. Le chronomètre est aussitôt déclenché pendant que le mélange est placé dans un bain-marie à 37°C. Sortir le tube à hémolyse du bain marie pour l'agiter rapidement et assurer le mélange ; le replacer au bain marie.

Sortir le tube du bain marie par inclinaison à 45°C toutes les trentes secondes au début, plus réquemment par la suite, jusqu'à ce que l'on observe la prise en masse du caillot.

La mesure du temps de recalcification se pratique en même temps que celle d'un plasma témoin prélevé et centrifugé dans les mêmes conditions (Lee et White, 1913).

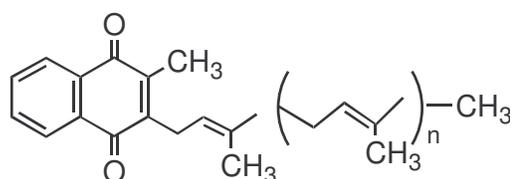
4-5-6 Les hémostatiques

Parmi les médicaments hémostatiques, nous pouvons citer:

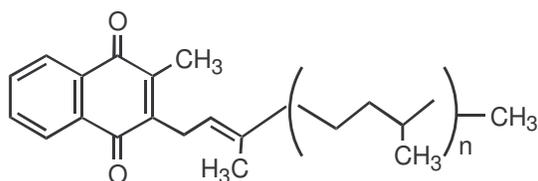
La phytoménadione Vitamine K1 Roche®

L'acénocoumarol Sintrom®

La Protamine Protamine®



Vitamine K1



Vitamine K2

4-5-7 Quelques plantes à activité hémostatique

Tableau n° 4: Plantes à activité hémostatique

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Références
<i>Jatropha curcas</i> Miers	<i>Euphorbiaceae</i>	Feuilles	Ross, 1999
<i>Vernonia colorata</i> Drake	<i>Compositae</i>	Racines	Bossokpi, 2002
<i>Hyptis pectinata</i> Poit	<i>Labiatae</i>	Racines	Bossokpi, 2002
<i>Spondias mombin</i> L.	<i>Anacardiaceae</i>	Racines	Bossokpi, 2002

4-7 L'activité antalgique

4-7-1 Notion de physiologie: la douleur

La douleur est une sensation anormale et désagréable provoquée par l'excitation excessive d'une partie vivante de l'organisme (Kernbaum et *coll.*, 2001) se manifestant sous différentes formes : brûlures, piqûre, crampe, pesanteur, étirement etc , d'intensité et d'extension variables . Elle est due le plus souvent à l'excitation des terminaisons nerveuses sensibles aux stimulations douloureuses siégeant au niveau des tendons (les agents internes en contiennent peu).

Lorsqu'un récepteur de la douleur est stimulé, les influx nerveux véhiculant le message cheminent dans les nerfs sensitifs vers la moelle épinière, puis l'information est transmise vers le thalamus où la sensation de douleur est perçue. Lorsque cela est possible, le cerveau envoie une réponse à un nerf moteur qui commande la contraction d'un muscle permettant l'éloignement de la source douloureuse.

Les types de douleurs

Nous distinguons:

La douleur épi critique qui est une douleur précise, exactement localisée, le plus souvent d'origine naturelle.

La douleur propathique est diffuse, profonde, mal localisée. Elle est conduite par des fibres innervant la paroi des viscères creux, les muscles, le tissu conjonctif. C'est une douleur d'origine proprioceptive ou intéroceptive.

Médiateurs de la douleur

Plusieurs substances sont considérées comme médiateurs de la douleur:

- L'histamine ou la sérotonine sont libérées lors de réactions inflammatoires douloureuses
- La bradykinine injectée sous le derme ou par voie IV provoque une sensation douloureuse

- La douleur apparaît lors d'une perfusion de prostaglandine puis subsiste une hyperesthésie
- La perfusion *in vitro* de bradykinine entraîne une augmentation de la teneur en prostaglandine par activation de la prostaglandine synthétase.

4-7-2 Evaluation de la douleur

Les méthodes d'évaluation de la douleur visent une quantification réitérée de la situation douloureuse. La subjectivité du phénomène incite à préférer l'auto-évaluation. Mais le patient peut dénier certaines perturbations ou tout simplement éprouver lui même des difficultés d'estimation de ses troubles ou d'utilisation de l'instrument proposé. C'est pourquoi le médecin veillera à respecter son degré d'expression et à adapter le matériel à l'ensemble de ses caractéristiques douloureuses, affectives et culturelles. Ces outils sont des vecteurs potentiels de communication thérapeutiques mais peuvent aussi faire écran à cette dernière. Cette démarche quantitative doit cependant rester secondaire à la clinique. Elle sera d'autant plus efficiente qu'elle pourra s'inscrire au sein d'une relation médecin-malade de qualité (Aouissa, 2002).

Evaluation de l'intensité de la douleur

Les échelles unidimensionnelles visent, en pratique à saisir la réponse globale aux traitements appliqués. Elles sont au nombre de trois:

■ L'échelle Analogique (EVA)

L'EVA se présente sous la forme de réglette plastifiée de 10 cm sur laquelle se trouve un curseur que le malade doit manipuler horizontalement. La réglette comporte deux faces: une face "patient" non graduée et une face "thérapeute" graduée qui permet la quantification de l'appréciation du malade. Le 0 correspond à l'absence de douleur et le 10 à la douleur maximale imaginable. L'EVA peut s'utiliser également en format papier crayon sur lequel le patient coche la ligne qui correspond à sa douleur.

L'EVA est, en pratique, l'échelle la plus utilisée car plus fiable. Elle assure une distribution continue des réponses avec impossibilité de mémoriser les antérieures.

■ L'échelle verbale simple (EVS)

Elle est beaucoup moins sensible car discontinue. Cependant, elle est beaucoup plus accessible au patient. Elle provoque une série de qualifications hiérarchisées et chiffrées à priori. Ces qualificatifs sont:

Douleur absente = 0

Douleur faible = 1

Douleur modérée = 2

Douleur importante = 3

Douleur extrême = 4

Le patient est invité à désigner le qualificatif adapté à sa douleur.

■ L'échelle numérique (EN)

Le patient donne une note de 0 à 10 ou de 0 à 100 en fonction de l'intensité de sa douleur. La note 0 est défini par "douleur absente" et la note 10 ou 100 par "douleur insupportable".

Chez l'enfant, il existe l'Observer Pain Scale pour coter la douleur.

Evaluation de la quantité de la douleur

L'instrument multidimensionnel le plus utilisé reste "le questionnaire douleur Antoine". Il s'agit d'une adaptation française du Mc Gill PAIN Questionnaire de Melzack.

Cette échelle d'auto-évaluation permet en pratique de préciser et de quantifier les participations respectives du sensoriel et de l'affectif dans la douleur. Son principe de fonctionnement est le suivant:

58 termes répartis en 16 classes: 9 sensorielles (de A à I) et 7 effectives (de J à P) sont proposées au patient pour décrire sa douleur. Il doit d'abord choisir tous les

adjectifs les mieux adaptés. On lui demande ensuite de sélectionner au sein de chaque classe concernée le meilleur descripteur de la douleur et de lui attribuer une note de 0 (pas du tout) à 4 (extrêmement). On calcule alors un score sensoriel et affectif par sommation.

4-7-3 Méthodes d'étude de l'activité antalgique

Test de Haffner

Il consiste à provoquer un stimulus mécanique en pinçant la base de la queue d'une souris qui se retourne et se mord. Sous l'effet de l'analgésique la réaction n'apparaît pas.

Test de Randall et Selitto

La patte du rat est soumise à une pression mesurée et ce dernier réagit par un cri. L'animal analgésié ne réagit pas.

Test de Woolf et Mc Donald

La souris est placée sur une plaque à la température de 56°C. Si elle n'est pas analgésiée, elle se lèche les pattes en moins de 8 secondes. Les réactions sont comparées à celles de souris naïves.

Test de l'Amour et Smith

Un rayon lumineux calorique est focalisé sur la queue de la souris qui déplace celle-ci en moins de 6 secondes. L'analgésié ne répond pas au bout de 16 secondes.

Test de Koll et Refert

La stimulation électrique de la pulpe dentaire du lapin entraîne chez ce dernier un frémissement des babines, un mâchonnement ou un recul de la tête selon l'intensité du stimulus. Après administration de l'analgésique, il faut rechercher l'intensité de courant qui ramène le réflexe de mâchonnement pour apprécier la durée de l'action analgésique.

Test de Siegmund

Une solution de phénylbenzoquinone ou d'acide acétique à 3% est injectée par voie intra péritonéale à la souris ou au rat. L'animal présente un phénomène de torsion du corps. La paroi abdominale est parcourue de contractures :C'est le "writing test". Sur des groupes d'animaux , la dose empêchant le phénomène de torsion à la douleur est recherchée.

Test de Linn

La bradykinine est injectée par voie intraveineuse au chien . Le chien aboie. La dose d'analgésique abolit le réflexe d'aboiement (Cohen, 1997).

4-7-4 Les antalgiques

4-7-4-1 Classification

Les antalgiques sont habituellement répartis en deux groupes: les analgésiques morphiniques, les analgésiques non morphiniques.

Les analgésiques morphiniques

Ils sont parfois appelés "analgésiques centraux" ou quelques fois qualifiés de "toxicomanogènes" parce qu'ils exposent à une tolérance, une pharmacodépendance, et, chez certains sujets, à un usage abusif. Ce sont:

L'opium et ses dérivés: morphine, codéine, papavérine, narcotine

La pentazocine : FORTAL

La péthidine : DOLOSAL

Le dextropropoxyphène : ANTALVIC, DIANTALVIC

Les analgésiques non morphiniques

Ils sont soit seulement sédatifs à la douleur, on les appelle antalgiques purs, soit antalgiques et antipyrétiques ou anti-inflammatoires. Ce sont:

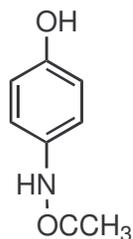
Les salicylés: exemple l'Acide acétyle salicylique

Les anilides: exemple Paracétamol

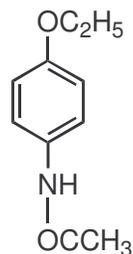
Les pyrazolés: exemple Noramidopyrine

Les indoliques: exemple l'Indométacine

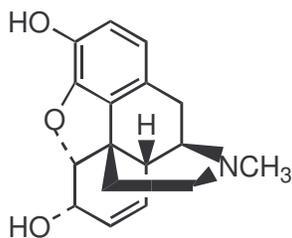
Les dérivés quinoléiques



Paracétamol



Phénacétine



Morphine

4-7-5 Quelques plantes à activité antalgique

Tableau n° 5: Plantes à activité antalgique

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Références
<i>Carica papaya</i> L.	<i>Caricaceae</i>	Feuilles	Ross,1999
<i>Pesrsea americana</i> P.mill	<i>Lauraceae</i>	Graines	Ross, 1999
<i>Macuna pruriens</i> (L)DC	<i>Leguminoseae</i>	Fruits	Ross,1999
<i>Argemone mexicana</i> L.	<i>Papaveraceae</i>	Feuilles	Kerharo et Adams, 1974
<i>Erythrophlæum guineense</i> G.D.	<i>Leguminosae</i>	Ecorces racines	Kerharo et Adams, 1974

5- TRAVAUX PERSONNELS

5-1 Méthodologie

Pour mener à bien notre étude, nous avons bénéficié des services des structures suivantes:

- Les sections Bactériologie et Stérilisation de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP)
- Le Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'INRSP
- L'animalerie du Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM)

Notre étude a consisté tout d'abord à répertorier de recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite en nous basant sur des informations fournies par des enquêtes ethnobotaniques déjà menées au Mali. C'est ainsi que nous avons travaillé sur 5 recettes traditionnelles.

Nos études expérimentales ont porté sur un criblage phytochimique et de tests biologiques préliminaires de nos plantes et recettes, ce qui nous a permis de retenir les recettes présentant une meilleure activité.

Enfin, deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* ont été soumises à une étude plus approfondie.

5-1-1 La collecte des données

Nous avons travaillé sur 5 recettes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des infections urinaires et de la cystite.

Nous avons sélectionné les recettes selon les documents suivants:

- La Pharmacopée Sénégalaise traditionnelle: Plantes médicinales et toxiques (Kerharo et Adams, 1974).
- Plantes médicinales du cercle de Kolokani. Mémoire ENMP (Nianaké Koné, 1980).
- Médecine et Magie africaines (Dominique Traoré, 1983).
- Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes (Denis Malgras, 1992).

5-1-2 Matériels

Les matériels techniques, les réactifs ainsi que les différents appareils utilisés sont mentionnés en annexe.

5-1-2-1 Matériel végétal

Nous avons travaillé sur les plantes suivantes:

Tableau n° 6: Plantes ayant servi pour l'étude et la confection des recettes

Plantes	Noms Bambara	Parties utilisées
<i>Cassia sieberiana</i>	Sindjan	Feuilles
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Dableni	Calices des fleurs
<i>Piliostigma thonningii</i>	Nyama muso	Ecorce du tronc
<i>Prosopis africana</i>	Gwélé	Ecorce de racines
<i>Stylosanthes erecta</i>	Ségou fali	Parties aériennes
<i>Tamarindus indica</i>	Ntomi	Fruits

Provenance

Les drogues de toutes les plantes ont été achetées à l'herboristerie du marché de Médine auprès de monsieur Mamadou Diarra en Décembre 2002. Les drogues provenaient dans l'ensemble de la 2^{ème} région administrative du Mali.

Traitement des drogues

Les drogues ont été séchées à l'ombre sur une claie, à la température ambiante. Puis elles ont été concassées dans un mortier traditionnel en bois puis pulvérisées au broyeur. Cependant, les gousses de tamarin ont été utilisées comme telles.

Préparation des recettes

Nous avons tenu compte des indications traditionnelles pour constituer les recettes. Chaque recette est constituée par l'association de deux plantes et nous avons préparé deux différentes proportions pour chaque recette.

5-1-2-2 Matériel animal

Les animaux sur lesquels les études ont été menées étaient des souris mâles et femelles blanches de la race OF1 (Oncins France Souche 1), dont les masses étaient comprises entre 18 et 25 grammes.

5-1-2-3 Préparation des extraits

5-1-2-3-1 Préparation des plantes et des 5 recettes

Pour la préparation des extraits, nous avons utilisé une prise de 20 grammes de drogues en respectant à chaque fois les proportions.

Décoction à l'eau

A 20 g de poudre nous avons ajouté 200 ml d'eau distillé et porté l'ensemble à l'ébullition pendant 15 minutes. Le produit obtenu a été filtré avec du papier filtre. Le filtrat obtenu a été concentré au Rotavapor à la température de 50°C environ puis lyophilisé après congélation. Le produit obtenu a été conservé dans un flacon propre, bien sec et stérile.

Macération à l'eau

Dans un erlenmeyer nous avons mis 20g de poudre de la recette et 200 ml d'eau distillée. L'ensemble a été ensuite placé sous agitation simple pendant 24 heures à la température du laboratoire. Après, nous avons filtré le produit obtenu avec du papier filtre, puis concentré au Rotavapor et lyophilisé. Le produit obtenu a été conservé dans un flacon propre, sec et stérile.

Macération à l'éthanol 80°

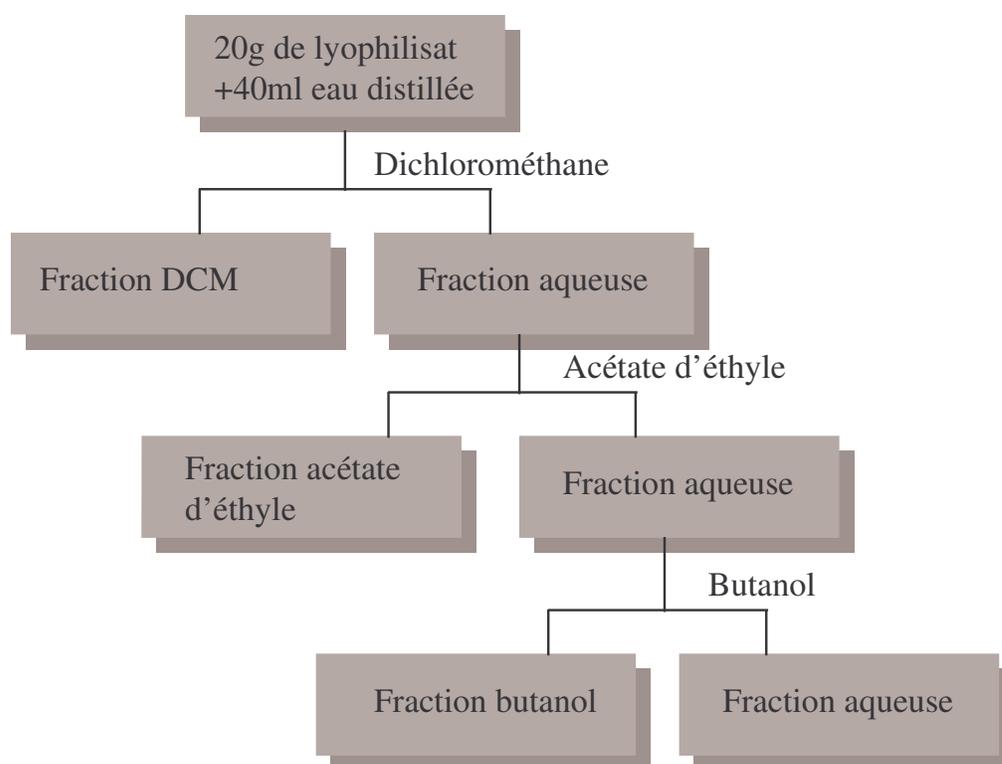
Dans un erlenmeyer nous avons mis 20 g de la poudre de la recette et 200 ml de l'éthanol 80° Après une agitation de 24 heures, le produit obtenu a été filtré, puis concentré au Rotavapor et lyophilisé. Le lyophilisat a ensuite été conservé dans un flacon, propre, bien sec et stérile.

5-1-2-3-2 Fractionnement et extraction à partir des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta*.

Séparation liquide-liquide

A partir de 150 g de la recette à 20% de *Stylosanthes erecta*+Tamarin (SET) et *stylosanthes erecta*+Hibiscus (SEH), nous avons obtenu des lyophilisats. 20 g du lyophilisat de chacune des recettes ont été repris avec 40 ml d'eau distillée. Dans une ampoule à décanter, nous avons procédé à une extraction avec des solvants à polarité croissante. Après agitation, chaque portion de solvant (40 ml) est resté 20 minutes en contact avec la phase aqueuse. L'opération a été répétée 3 fois pour les solvants organiques suivants: dichlorométhane, acétate d'éthyle, butanol. Chaque fraction obtenue a été concentrée et lyophilisée si possible. La phase aqueuse restante a également été concentrée et lyophilisée.

Figure n° 1: Schéma de la séparation liquide-liquide des lyophilisats des recettes

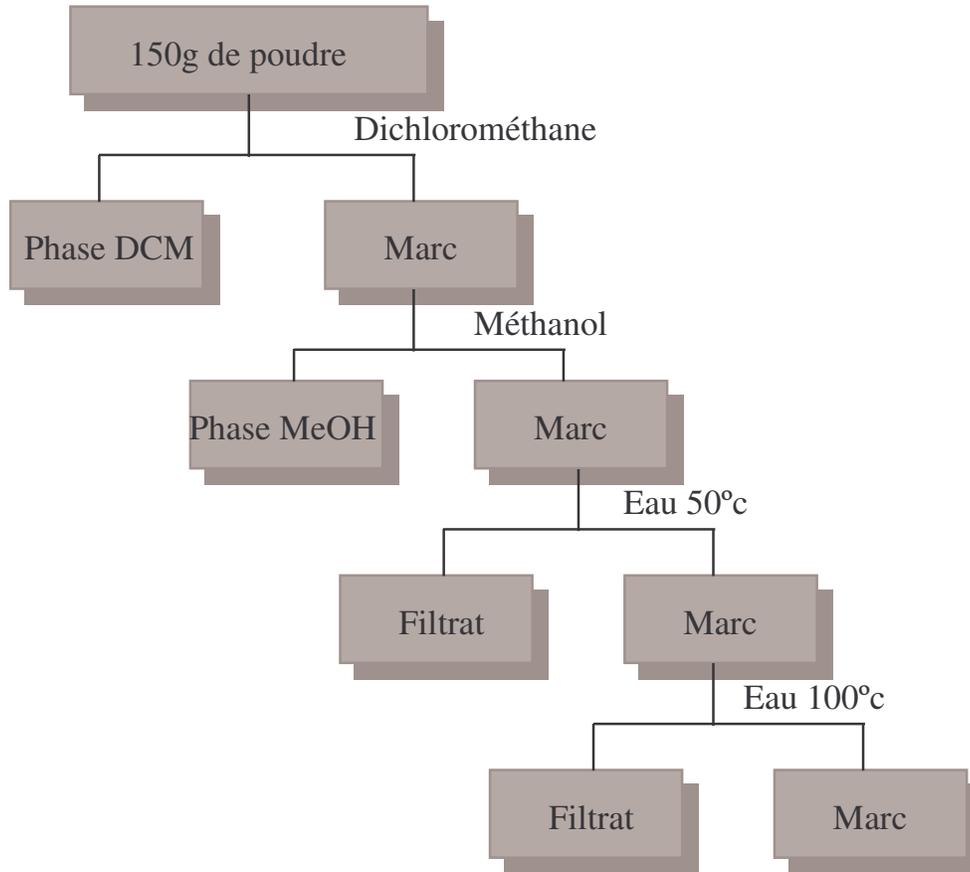


Extraction par les solvants à polarité croissante

150 g de poudre des recettes à 20% de SET et SEH ont été placés en macération 3 fois 24 heures dans 300 ml de chacun des solvants organiques suivants: dichlorométhane, méthanol.

Le marc restant a été séché pendant 24 heures puis soumis à une digestion et une décoction pendant 3 heures respectivement. Chaque extrait a été concentré et lyophilisé.

Figure n°2: Schéma de l'extraction des recettes par les solvants à polarité croissante



5-1-3 Etudes phytochimiques

5-1-3-1 Réactions de caractérisation

5-1-3-1-1 Alcaloïdes

A 20 g de poudre est additionné de l'acide sulfurique dilué au 1/20. L'ensemble est laissé en macération pendant 24 heures puis filtré.

Dans 2 tubes à essai, introduire 1 ml de filtrat et ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff dans le second tube. S'il y a apparition d'un précipité, la présence d'alcaloïdes est confirmée par leur extraction.

Détermination du pourcentage des alcaloïdes

Mettre en agitation 3 g de poudre, 25 ml d'acide sulfurique à 10% et 5 ml d'eau distillée. Compléter à 50 ml avec de l'eau distillée après filtration. Ajouter NH_4OH $\frac{1}{2}$ jusqu'à pH8-9 puis faire une extraction avec 50 ml de chloroforme. Le filtrat séché sur sulfate de sodium anhydre est évaporé au bain-marie dans une capsule préalablement pesée. La capsule est encore pesée avec le résidu.

5-1-3-1-2 Substances polyphénoliques

La solution à analyser est un infusé à 5% préparé avec 100 ml d'eau distillée bouillante sur 5 g de poudre de drogue.

- Tanins

Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'infusé, ajouter 1 ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

Tanins catéchiques: Ajouter à 5 ml d'infusé, 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool 95°, 5 ml d'eau distillée, 5 ml d'HCl conc.) concentré, le tout porté à ébullition pendant 15 minutes. En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

Tanins galliques: Ajoutons à 30 ml d'infusé 15ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40%, 15 ml d'acide chlorhydrique concentré). Chauffer au bain-marie à 90° C pendant 15 minutes. Filtrer le précipité et saturer le filtrat de 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter 1

ml goutte à goutte d'une solution de FeCl_3 à 1%. L'obtention de précipité montre la présence de tanins galliques.

Filtrer et saturer 10ml du filtrat d'acétate de sodium. Ajouter quelques gouttes de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

- Flavonoïdes

A l'infusé à 5% présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter un acide (5 ml de H_2SO_4) puis une base (5 ml de NH_4OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacée en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyane.

Réaction à la cyanidine: Introduire dans un tube à essai 5ml d'infusé, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes); puis quelques copeaux de magnésium et 1ml d'alcool iso amylique.

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

La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aures, les catéchines et les isoflavones.

Leucoanthocyanes: effectuer la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 mn au bain-marie.

En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée.

Les catéchols donnent une teinte brun rouge.

5-1-3-1-3 Dérivés anthracéniques

- Anthraquinones libres

A 1 g de poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer pendant 3 minutes. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire. A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

- Anthracéniques combinés

O-hétérosides: Préparer un hydrolysât à partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme auquel il faut ajouter 10 ml d'eau, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré puis maintenir le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. 5 ml de l'hydrolysât sont agités avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué. La présence d'antraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense.

La réaction peut être plus poussée par addition à 5 ml d'hydrolysât de 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10%, puis agitation avec 5 ml de chloroforme. A la phase chloroformique ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

C-hétérosides: Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée par 10 ml d'eau, ajouter 1 ml de FeCl_3 à 10%. Après ébullition au bain-marie pendant 30 minutes agiter avec 5 ml de chloroforme et ajouter à la phase chloroformique 1 ml de NH_4OH dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines C-hétérosides.

- Différenciation des Quinones

A 1 g de poudre humectée avec H_2SO_4 10% sont ajoutés 20 ml d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme. Après une macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu sont évaporés à l'air, puis le résidu est repris par quelques gouttes d'éthanol à 95°. Ajouter goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5%.

5-1-3-1-4 Stérois et terpènes

L'extrait à tester est obtenu à partir de 1 g de poudre et 20 ml d'éther laissés en macération pendant 24 heures, filtré et complété à 20 ml. Evaporer jusqu'à sec dans une capsule 10 ml d'extrait, puis dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Partager dans 2 tubes à essai. L'un servant de témoin, mettre dans le fond du second tube à l'aide d'une pipette 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré. A la zone de contact des deux liquides il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérois et triterpènes.

5-1-3-1-5 Caroténoïdes

Après évaporation jusqu'à sec de 5 ml d'extrait, ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe en présence de caroténoïdes une coloration bleue devenant rouge par la suite.

5-1-3-1-6 Hétérosides cardiotoniques

La solution à analyser est obtenue par addition à 1 g de poudre de 10 ml d'alcool à 60°C et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10%, le tout porté au bain-marie bouillant pendant 10 minutes. La phase chloroformique obtenue après agitation du filtrat avec 10 ml de chloroforme est partagée entre 3 tubes à essais et évaporée au bain-marie bouillant jusqu'à sec. Les résidus sont repris avec 0.4 ml d'isopropanol et dans les 3 tubes sont ajoutés respectivement 1 ml de réactif de Baljet, 1 ml de réactif de Kedde, 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud. Introduire dans chaque tube 2 gouttes de KOH à 5% dans l'éthanol et observer après 10 minutes environ. En présence de cardénolides, les colorations suivantes se développent : tube 1: orangé; tube 2: rouge violacé ; tube 3: violet fugace.

5-1-3-1-7 Saponosides

100ml du décocté à 1% sont répartis dans 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 successivement 1, 2,...10 ml. Le volume de chaque tube est ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laissé au repos pendant 15 minutes. Puis la hauteur de la mousse est mesurée.

5-1-3-1-8 Composés réducteurs

5 ml de décocté aqueux à 10% sont évaporés au bain-marie jusqu'à sec. Ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling (0.5 ml réactif A + 0.5 ml réactif B, mélange extemporané). L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

5-1-3-1-9 Oses et holosides

A 5 ml de décocté aqueux à 10% évaporé à sec ajouter 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré, puis après 5 minutes 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

5-1-3-1-10 Mucilages

A 1 ml de décocté à 10% ajouter 5 ml d'éthanol absolu. L'obtention d'un précipité floconneux, par mélange, indique la présence de mucilages.

5-1-3-1-11 Coumarines

5 ml d'extrait éthérique obtenu après une macération de 24 heures sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est partagée entre 2 tubes à essai. La présence de coumarines est manifestée après ajout dans l'un des tubes de 0.5 ml de NH_4OH à 25% et observation de la fluorescence sous UV 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

5-1-3-1-12 Hétérosides cyanogénétiques

5 ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène sont ajoutés à 1 g de poudre. Bien agiter, nettoyer le partie supérieure du tube à essai et y fixer à l'aide d'un bouchon le papier picrosodé fraîchement préparé. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est indiquée par la coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

5-1-3-2 Substances extractibles par l'eau

Faire une décoction pendant 15 minutes avec 1 g de poudre et 20 ml d'eau. Le filtrat est mis dans une capsule préalablement pesée et évaporé à sec. La capsule est ensuite pesée à froid et la masse du résidu déduite.

5-1-3-3 Dosage de l'eau par entraînement azéotropique

5 g de poudre sont portés à ébullition pendant 1 heure dans un système de réfrigérant à reflux avec 100 ml de toluène et 1 ml d'eau. Après 30 minutes de repos. Le niveau de l'eau n°1 est noté. L'ébullition est reprise à nouveau pour 1 heure et le niveau n°2 de l'eau est relevé après 30 minutes de repos. De cette manière, il est possible de déterminer la quantité d'eau présente dans la poudre.

5-1-3-4 La chromatographie sur couche mince (CCM)

Nous avons établi le profil chromatographique des différents extraits et fractions des recettes et des plantes qui les composent.

5-1-3-4-1 Principe

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des constituants présents dans un extrait à partir de leur force de migration dans un système de solvants approprié et leur affinité pour le Silicagel.

Elle utilise:

1. Une phase stationnaire, comme la silice 60F₂₅₄ d'épaisseur 0.25mm en couche fine sur une plaque d'aluminium ou de verre.
2. Une phase mobile composée par des systèmes de solvants appropriés, mis dans une cuve de migration.

5-1-3-4-2 Procédé

Solution d'essai: Nous avons dissous les fractions et extraits obtenus après les différentes séparations dans du Méthanol:Eau (1:1) ou dans du dichlorométhane pour les extraits dichlorométhanes à la concentration de 10mg par ml.

Dépôt: Nous avons fait des dépôts de 4 µl d'extrait à l'aide d'une micro pipette.

Phases mobiles: Les systèmes de solvants que nous avons utilisés sont:

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

Ligroïne-Acétate d'éthyle (2-1)

Observation : Après migration, les plaques ont été séchées à l'air puis observées sous lampe UV à 254 nm et à 366 nm. A 254 nm les taches ont été encerclées en trait plein. A 366nm elles ont été encerclées en pointillés: ce sont des substances UV actives.

Révélation : Nous avons ensuite pulvérisé les plaques avec les révélateurs suivants.

Le réactif de Godin, réactif polyvalent

Le chlorure d'aluminium AlCl₃ spécifique des flavonoïdes

Le réactif de Dragendorff spécifique des alcaloïdes

Le chlorure ferrique FeCl₃ spécifique des tanins.

Les spots qui réagissent après la révélation ont été marqués entre crochets.

Calcul du (Rf): Pour chaque tache, nous avons calculé le facteur de rétention (Rf) qui est égale à la distance parcourue par chaque constituant par rapport à la distance parcourue par le solvant selon la formule ci-dessous:

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

5-1-4 Etudes des activités biologiques

5-1-4-1 Les tests biologiques *in vitro*

5-1-4-1-1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits et fractions a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en Agar selon Bauer et coll., (1966).

Les extraits aqueux des recettes à 20%, les extraits organiques et fractions obtenus à partir des phases aqueuses des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* ont été soumis à ce test.

Préparation des extraits : Les extraits à tester ont été obtenus à partir de 100 mg de lyophilisat additionnés à 1 ml de Diméthyl sulfoxyde (DMSO). Chaque extrait a été déposé sur un disque de papier de 6 mm de diamètre. Nous avons préparé des disques avec 1, 2, 3, et 4 µl. de solution de 100 mg/ml correspondant respectivement à 100, 200, 300 et 400 µg d'extrait ou de fractions.

Matériel biologique: Nous avons travaillé sur des prélèvements d'urines enregistrés au laboratoire de Bactériologie de l'INRSP pour la période de notre stage (Mai-Août 2003). Ces prélèvements provenaient de sujets présentant des signes d'infections urinaires.

Identification des souches à tester: Des prélèvements d'urines ont été observés à l'état frais après centrifugation. La culture a été faite sur la gélose ordinaire. Les colonies bactériennes obtenues ont été identifiées par la galerie Api 20 E. Les souches retenues ont ensuite été repiquées dans un milieu de conservation d'où elles ont été reprises pour le test.

Test proprement dit: Les suspensions bactériennes ont été préparées par rapport à une suspension de référence et versées sur gélose Mueller Hinton (MH). Des disques imprégnés d'extraits de plante sont déposés sur le milieu MH qui est placé à l'étuve pendant 24 heures à la température de 37°C. La manifestation d'une activité est observée par la présence d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'extrait. Des antibiotiques standard ont été utilisés dans les mêmes conditions.

5-1-4-1-2 Activité antifongique: Méthode bioautographique “ Agar overlay”

L'activité antifongique a été évaluée en utilisant la méthode de selon la technique reportée par Rahalison et *coll.*, 1991.

Seuls les chromatogrammes obtenus avec extraits éthanoliques des plantes et les recettes à 20% ont été soumis à ce test.

Préparation des chromatogrammes: Les extraits lyophilisés ont été dissous dans un mélange méthanol-eau (1-1) à raison de 10 mg par ml. Nous avons ensuite réalisé des chromatogrammes sur plaque de verre avec des dépôts de 60 µl par extrait. Nous avons également fait un dépôt d'un antifongique témoin, la Nystatine 5 µl d'une solution à la concentration de 1 mg/10 ml dans le MeOH-Eau (1-1).

Recherche du germe à tester : *Candida albicans*

Au laboratoire de Bactériologie de l'INRSP, à partir de prélèvements vaginaux nous avons réalisé la coloration de Gram puis l'ensemencement sur gélose ordinaire. La culture obtenue a été identifiée par la galerie Api 20E.

■ Test de filamentation

Une à deux colonies sont placées dans 2 ml d'eau physiologique ou de sérum physiologique. Après 2 heures d'incubation à l'étuve à 37°C, l'observation entre lame et lamelle nous permet d'observer un bourgeonnement des spores. Ce bourgeonnement est spécifique de *Candida*.

■ Isolement sur gélose Sabouraud + Chloramphénicol

Quelques colonies obtenues sur gélose ordinaire ont été repiquées sur gélose Sabouraud + chloramphénicol qui est un milieu sélectif de croissance pour *Candida albicans*.

Préparation des milieux:

Gélose Sabouraud à 2% de glucose

Nous avons ajouté à 3 g de poudre 100 ml d'eau distillée. Le mélange obtenu est homogénéisé et passé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Bouillon de Sabouraud à 2% de glucose

Après avoir dissous 3g de poudre dans 100 ml d'eau distillée, nous avons agité jusqu'à dissolution complète et réparti le mélange obtenu dans des flacons à raison de 50 ml par flacon. Puis nous les avons stérilisé à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C.

Agar à l'extrait de Malt

A 150 ml d'eau distillée nous avons ajouté 7.2 g de poudre, puis nous avons chauffé légèrement le mélange et réparti dans des flacons de 50 ml avant de les stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C.

Test proprement dit: Il s'est déroulé en 3 jours:

jour 1: Nous avons repiqué une culture de *Candida albicans* sur un milieu de culture d'Agar de Sabouraud glucosé puis incubé à 30°C pendant 24 heures environ.

Jour 2: Nous avons préparé deux erlenmeyers contenant 50 ml de milieu du bouillon de Sabouraud. Après stérilisation à l'autoclave, nous avons laissé refroidir. A froid, nous avons ajouté une pointe de spatule d'une culture issue du milieu Agar de Sabouraud glucosé. Nous avons laissé reposer une nuit sous agitation.

Jour 3: En début de matinée nous avons prélevé 0.5 ml du milieu trouble obtenu et nous l'avons ajouté au second bouillon que nous avons laissé reposer pendant environ 7 heures sous agitation. Pendant ce temps, nous avons préparé les milieux de culture à base de Malt Agar et les avons répartis en erlenmeyers de 50 ml (il faut 10 ml de Malt Agar pour une plaque de 10 sur 10 cm). Le malt Agar fondu doit être maintenu au bain-marie à 48°C. Nous avons ajouté ensuite 0.5 ml du bouillon Sabouraud à chaque fraction de 50 ml de Malt Agar fondu afin d'obtenir un inoculum contenant environ 10^5 germes /ml. Nous avons laissé à nouveau reposer à 48°C puis nous avons versé l'inoculum sur les chromatogrammes (10 ml par portion de 10 x 10 cm).

Après incubation à 30°C pendant une nuit en atmosphère humide, nous avons révélé les plaques à l'aide d'une solution aqueuse de bromure de méthylthiazoyltétrazolium (MTT) à 2,5mg/ml. Les zones d'inhibition de croissance ont apparu sous forme de taches décolorées sur fond violet, après une nouvelle incubation de 4 heures.

Pour la conservation des plaques, nous avons gicler de l'éthanol sur celles -ci afin de tuer les microorganismes. Puis les plaques peuvent être recouvertes de feuilles de plastique transparent après séchage.

5-1-4-1-3 Activité anti-radicalaire contre radical 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH).

Il se résume en la réduction du radical 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle par les substances antiradicalaires.

Tous nos extraits aqueux, organiques et fractions obtenus à partir de la phase aqueuses ont été soumis à ce test.

4 µl de chaque extrait et fraction ont été chromatographiés sur une plaque de Silicagel 60G F₂₅₄. Le développement des plaques a été fait avec les systèmes BAW = Butanol-Acide acétique- Eau (60-15-25) et Ligroïne: Acétate Ethyle (2:1). Après séchage, nous avons giclé les plaques avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH).

Les constituants présentant une activité anti-radicalaire apparaissent sous forme de spots de couleur jaune clair sur fond violet. Nous avons calculé les Rf de chaque spot.

5-1-4-1-4 Activité hémostatique.

Mesure du temps de coagulation par la méthode de Lee et White (1913):

Le test d'évaluation *in vitro* de l'activité hémostatique a été effectué sur le sang total. Pour chacune des recettes, 100 mg d'extrait aqueux lyophilisé ont été dissout dans 1 ml d'eau distillée. Nous avons réparti cette solution entre 8 tubes à essai à raison de 10, 25, 50 et 100 µl pour deux tubes. Dans 2 tubes témoins nous avons mis 100 µl d'eau distillée.

Nous avons ensuite prélevé 5 ml de sang humain que nous avons réparti dans les 10 tubes à raison de 0.5 ml par tube. Les tubes ont été bouchés avec du coton et placés au bain-marie à 37°C.

Dès la pénétration du sang dans la seringue, nous avons déclenché le chronomètre et au bout de 3 minutes nous avons commencé l'observation qui s'est poursuivie toutes les 30 secondes.

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

5-1-4-1-5 Recherche de constituants hémolytiques.

Les chromatogrammes obtenus avec les extraits et fractions des deux recettes ont été révélés avec du sang frais de bœuf prélevé sur du citrate de sodium.

Les chromatogrammes ont été immergés dans une cuve contenant le sang, la cuve a été placée au réfrigérateur pendant une heure.

Puis les plaques ont été rincées à l'eau du robinet puis observées à l'air libre. Les constituants provoquant l'hémolyse apparaissent sous forme de taches blanches sur fond rouge.

5-1-4-2 Les tests biologiques *in vivo*

5-1-4-2-1 Activité analgésique des extraits des deux recettes de *Stylosanthes erecta*

Principe : Il consiste à vérifier l'action inhibitrice des extraits en étude sur la douleur provoquée chez la souris par la chaleur (Hot plate test) ou par l'injection intra-péritonéale (I.P) d'une solution diluée d'acide acétique (Writhing test).

Animaux : Les souris de 18 à 25 g (**Photo n° 1**) ont été maintenues à jeun pendant 18h avant le début de l'expérience. Nous avons travaillé sur des lots de 6 à 10 souris (mâles et femelles) .

Etude de l'activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante «Hot plate» : **Elle permet d'évaluer une activité analgésique centrale.**

Protocole :

Nous avons travaillé sur des lots de 10 souris.

A Temps 0 heure, avant l'administration de l'extrait nous avons mesuré deux fois le temps de réaction de chaque souris avec 10 min d'intervalle entre les deux lectures. Les extraits aqueux à la dose de 1000 mg/kg de drogue sèche, le chlorhydrate de tramadol à la dose de 5 mg/kg et l'eau distillée à la dose de 0,5 ml pour 20 g poids corporel ont été administré par gavage gastrique.

Trente minutes après le traitement, nous avons laissé tomber doucement les souris sur la plaque chauffante entourée d'un cylindre de rétention. La température de la plaque a été maintenue à $50 \pm 1^\circ\text{C}$ (Eddy et Leimbach, 1953). Nous avons noté le temps de réaction.

Le temps de réaction correspond à l'intervalle entre le moment où la souris atteint la plaque chauffante et le moment où elle se lèche les pattes, ou bien celui où elle saute hors du cylindre. Les autres mouvements sont ignorés.

Nous avons donc noté le temps de réaction de chaque souris à 30, 60, 90, et 120 minutes après l'administration des extraits, du médicament de référence et l'eau.

La réponse est considérée positive si le temps de réaction est de 8 secondes plus long que la moyenne des deux temps de réaction mesurés à 10 minutes d'intervalle avant le traitement par les substances analgésiques.

Nous avons retenu 30 secondes comme temps de « Cut off », un temps limite pour éviter d'endommager les tissus par la trop longue permanence sur la plaque chaude.

Evaluation de l'activité analgésique :

Nous avons calculé dans un premier temps, le temps de réaction en secondes, exprimé en moyenne \pm DS (déviation standard) pour chaque groupe. La signification statistique a été exprimée selon le test *t* de Student.

Le pourcentage d'augmentation du temps de réaction a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Augmentation} = \frac{(\text{MTR après administration}) - (\text{MTR avant administration})}{(\text{MTR avant administration})} \times 100$$

MTR= Moyenne des Temps de Réaction

Activité antalgique vis à vis de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique «Writhing test»

Protocole:

Nous avons travaillé sur 7 lots de 6 souris.

Pour chacune des deux recettes, l'extrait aqueux à la dose de 500 et 1000 mg/kg de drogue sèche, l'Indométacine (5 mg/kg), le Paracétamol (100 mg/kg) et l'eau distillée à raison de 0,5 ml pour 20 g poids corporel ont été administrés respectivement aux souris des différents lots.

Une heure après le traitement, une injection de 10 µl/g d'une solution à 0,6 % d'acide acétique dans l'eau) a été faite en I.P dans le péritoine de chaque souris selon la méthode de Siegmund (Siegmund, 1957).

Après l'injection de la solution d'acide acétique et un temps de latence de 5 minutes. nous avons compté pour chaque souris le nombre torsions pour les 20 minutes suivantes.

Le syndrome douloureux se caractérise par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale (**Photo n° 2**).

Nous avons calculé pour chaque groupe la moyenne (M) des torsions effectuées dans chaque groupe et la déviation standard (SD). La signification statistique a été déterminée au moyen du test *t* de Student.

Evaluation de l'activité antalgique :

Le pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité par les différentes doses de l'extrait et l'Indométacine et le véhicule, a été calculé en comparant la moyenne des groupes traités par les extraits, l'Indométacine et le

Paracétamol avec celle du groupe témoin traité par l'eau distillée. Le pourcentage d'inhibition de la douleur est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{MnbreTgroupe témoins}) - (\text{MnbreTgroupe traité})}{(\text{MnbreTgroupe témoins})} \times 100$$

MnbreT= Moyenne du nombre de torsions



Photo n° 1 : La pesée de la souris



Photo n° 2 : Writhing test : étirement de la patte postérieure et torsion de la musculature dorsale abdominale

5-2. Résultats

5-2-1 Recettes traditionnelles utilisées dans les infections urinaires et la cystite

Le tableau suivant reporte les 5 recettes utilisées dans les troubles urinaires (Koné, 1980)

Tableau n°7: Recettes et plantes utilisées dans le traitement de différentes affections des voies urinaires dont les infections urinaires et la cystite.

Recettes	Plantes	Parties utilisées	Forme d'utilisation	Posologie
R1: CST	<i>Cassia sieberiana</i> <i>Tamarindus indica</i>	Feuilles Fruit	Décocté	A boire 2 à 3 fois par jour
R2: PTT	<i>Piliostigma thonningii</i> <i>Tamarindus indica</i>	Ecorces Fruit	Décocté	A boire 2 à 3 fois par jour
R3: PAT	<i>Prosopis africana</i> <i>Tamarindus indica</i>	Ecorces de racines Fruit	Macéré	A boire 2 à 3 fois par jour
R4: SEH	<i>Stylosanthes erecta</i> <i>Hibiscus sabdariffa</i>	Plante entière Calice	Décocté	A boire 2 à 3 fois par jour
R5: SET	<i>Stylosanthes erecta</i> <i>Tamarindus indica</i>	Plante entière Fruit	Décocté	A boire 2 à 3 fois par jour

5-2-1-1 Composition des recettes:

A partir des recettes traditionnelles nous avons retenu les proportions suivantes des deux composantes de chaque recette.

Tableau n°8: Les proportions des recettes utilisées pour nos études expérimentales.

% Composante 1	% Composante 2	Recettes
<i>Cassia sieberiana</i> (90%)	<i>Tamarindus indica</i> (10%)	CST 10%
<i>Cassia sieberiana</i> (80%)	<i>Tamarindus indica</i> (20%)	CST 20%
<i>Piliostigma thonningii</i> (90%)	<i>Tamarindus indica</i> (10%)	PTT 10%
<i>Piliostigma thonningii</i> (80%)	<i>Tamarindus indica</i> (20%)	PTT 20%
<i>Prosopis africana</i> (90%)	<i>Tamarindus indica</i> (10%)	PAT 10%
<i>Prosopis africana</i> (80%)	<i>Tamarindus indica</i> (20%)	PAT 20%
<i>Stylosanthes erecta</i> (90%)	<i>Tamarindus indica</i> (10%)	SET 10%
<i>Stylosanthes erecta</i> (80%)	<i>Tamarindus indica</i> (20%)	SET 20%
<i>Stylosanthes erecta</i> (90%)	<i>Hibiscus sabdariffa</i> (10%)	SEH 10%
<i>Stylosanthes erecta</i> (80%)	<i>Hibiscus sabdariffa</i> (20%)	SEH 20%

5-2-1-2 Les plantes des recettes

Les informations sur les descriptions botaniques des plantes ont été reportées selon différents documents (Kerharo et Adams,1974; Adjanohoun et *coll.*, 1980; Aké Assi et *coll.*, 1978; Guinko et *coll.*, 1983; De la Pradilla, 1981; Malgras, 1992; Eyog Matig et *coll.*, 1990).

Les résultats de la revue bibliographique des 6 plantes qui rentrent dans la composition des 5 recettes retenues sont présentés selon le plan suivant :

1. Nom scientifique
2. Synonymes
3. Famille
4. Noms locaux
5. Description botanique de la plante
6. Habitat et situation géographique
7. Indications en pharmacopée traditionnelle
8. Autres utilisations
9. Données chimiques
10. Données pharmacologiques

5-2-1-2-1 *Cassia sieberiana* DC

Synonyme: *Cassia kotschyana* Oliv.

Famille: *Caesalpinaceae*

Noms locaux

Anglais: African laburnum, West African laburnum, drumstick tree

Français: casse du Sénégal, casse de Siéber, casse flûte

Mali

Bambara: sindian, sinjan

Songhai: sinesan

Fula: gamba fadahi

Togo

Ewé: gatsigatsi, galsi

Moba: pangpapunu

Cameroun

Fula: malgahi, malgoîhi guiehi

Arabe shuwa: sireih

Niger

Hausa: malga

Zarma: sinsan

Peuhl: sinsangahi

Burkina faso

Moré. Koumrisaka

Dioula: бага, sindjan, sinia

Siamou: gouècheli

Description botanique

Petit arbre de 8 à 10 mètres, souvent moins, à fût court, contourné, fréquemment ramifié près de la base. Ecorce fissurée lamelleuse, foncée chez les vieux sujets. Les branches sont flexueuses et tombantes. Feuilles composées pennées, vert foncées, avec 6 à 12 paires de folioles brillantes dessus, oblongues, lancéolées, largement acuminées mais obtuses au sommet, à poils opprimés à la face inférieure, à nervure médiane déprimée en dessus, très saillante dessous. Pétioles de 3 cm environ, pétiolules de 5mm. Fleurs en grappes pendantes jaune d'or. Chaque fleur peut être pédicellée jusqu'à 5cm (**Photo 3**). Fruits en gousses cylindriques ligneuses atteignant plus de 10cm sur 10 à 15mm de diamètre,

droites, brun foncées ou noirâtres à maturité, persistant longtemps dans l'arbre, avec de nombreuses graines, une par loge.

Cycle végétatif:

L'arbre perd ses feuilles en Novembre, les fleurs à partir de Janvier mais surtout en Avril-Mai, les fruits apparaissent en Février mais surtout en Mai-Juin et persistent longtemps sur l'arbre (Malgras, 1992).

Habitat et Situation géographique

Plante commune dans les savanes soudano-guinéennes allant du Sénégal au Nigéria jusqu'en Afrique de l'Est, Uganda et Tanganyika. Au Niger, elle se rencontre fréquemment dans le sud du pays (Adjanohoun et coll., 1980; Burkill, 1995). Au Sénégal elle est commune jusqu'en lisière de la forêt guinéenne en Casamance. Il est très rare dans le sud du Sahel ou il persiste encore dans les galeries sèches et les sols sablonneux du Cayor (Kerharo et Adams, 1974).

Au Mali, il constitue un élément majeur des savanes boisées soudaniennes (région de Kayes, San, Ségou) ou soudano-guinéennes (régions de Sikasso, Gougouni, frontières Côte d'Ivoire et Guinée) (Malgras, 1992). Elle se développe sur les sols sablonneux limoneux et latéritiques. Elle préfère les sols humides bien drainés, sinon la plante reste rabougrie (Von Maydell, 1983).

Indications en pharmacopée traditionnelle

Au Sénégal, *Cassia sieberiana* est utilisée comme purgatif, diurétique, pour traiter la constipation, l'anurie, la dysurie, les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux, la lèpre, les oedèmes, les maladies vénériennes et l'impuissance, la stérilité, les douleurs rénales, la fièvre, les courbatures. Elle possède une action dans les Schistosomiasis, les hernies. Le macéré est utilisé en bains et massages pour combattre la fatigue (Kerharo et Adams, 1974).

En Sierra Léone, un extrait de racines est utilisé pour traiter la hernie étranglée. Les racines sont prises aussi contre la constipation. Une préparation de la plante est utilisée contre l'éléphantiasis. Les racines sont utilisées comme cure-dents en

période de Ramadan peut-être pour leur action purgative et diurétique. L'écorce des racines est un puissant purgatif et diurétique (Burkill, 1995).

En Côte d'Ivoire, une décoction de racines est prise à forte dose comme ténifuge. La poudre de racines associées aux graines de *Xylopiya aethiopica* A.Rich (*Annonaceae*) et racines d'*Afromomum melegueta* Schum (*Zingiberaceae*) constituent un aphrodisiaque. La poudre d'écorce est prise en décoction pour la décharge urétrale. La poudre d'écorce seule ou ajoutée à du citron est utilisée contre la hernie étranglée. La poudre est aussi utilisée pour soigner les douleurs d'estomac. La plante est utilisée en frictions pour les œdèmes localisés, contre les règles douloureuses. Les feuilles bouillies sont utilisées en cataplasme contre la pleurésie (Burkill, 1995).

Au Mali, les racines macérées avec celles de *Securidaca longepedunculata* sont utilisées dans les troubles visuels, l'onchocercose et ses suites, bouillies elles favorisent l'accouchement, en décoction elles sont utilisées dans le paludisme, l'asthénie, maux de tête, défatiguant. Elles favorisent la lactation des femmes qui viennent d'accoucher. La décoction des racines favorise la régularité des règles. Les feuilles en infusion sont hémostatiques, favorisent la lactation, sont fébrifuges. La pulpe des fruits entourant les graines est employée comme laxatif (Malgras, 1992).

Au Burkina Faso, le décocté de racines est utilisé dans le traitement des douleurs abdominales, de la blennorragie et de l'ictère. Il aurait des propriétés laxatives. Le macéré des racines est utilisé dans les maux de ventre (colique, bilharziose) (Guinko et coll., 1983).

Au Ghana, la poudre de racines est prise avec de l'eau contre les morsures de serpent. Les racines sont utilisées en cas de dysenterie, d'hémorroïdes. La poudre d'écorce est donnée contre la gonorrhée et les racines et la pulpe de fruit ensemble sont purgatives et stomachiques et remédient aux vertiges ou à l'intoxication (Burkill, 1995).

Au Niger, l'eau de macération des racines de *Cassia sieberiana* peut être utilisée. Pour les ictères, boire l'eau de de macération d'une poignée de fruits de *Tamarindus indica* et une pincée de 4 doigts de poudre d'écorce du tronc de *Cassia sieberiana* . Une décoction de racines de *Cassia sieberiana* mélangées avec du natron est utilisée contre la toux. En pathologie rhumatismale (douleurs ostéo-articulaires) une décoction est préparée avec la partie aérienne (Adjanohoun et coll., 1980). Pour les maux de ventre (colique), la bilharziose, les racines sont macérées pendant une semaine puis le macéré est additionné de miel et d'eau (Guinko et coll., 1983).

Autres utilisations

Le bois est utilisé pour la charpente, comme mortier et pour la fabrication des outils. A cause de sa grande résistance, il est utilisé dans la confection des rails de chemin de fer (Burkill, 1995).

Au Mali, la plante est utilisée comme bois de cuisine, bois d'oeuvre. Il sert de couverture des terrasses indigènes. L'écorce est tannifère (Malgras, 1992).

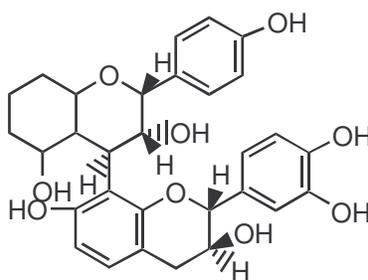
Au Togo, la plante est destinée à la consommation humaine, en fourrage. Les racines et les graines donnent un poison à poisson. Les Hausa du nord du Nigeria les utilisent également comme poison de pêche (Von Maydell, 1983; Eyog Matig et coll., 1990).

Chimie

Les tissus de la plante contiennent de l'oxalate de calcium en abondance et de petites quantités d'acide cyanhydrique. Les feuilles contiennent des dérivés anthraquinoniques et un hétéroside mal défini (Burkill, 1995; Neuwinger, 1996).

Dans les folioles provenant du Mali il a été trouvé des dérivés anthraquinoniques carboxyliques, mais ni anthrones, ni dianthrones, ni dérivés non carboxyliques. Il y a été décelé aussi des dérivés flavonoïdes parmi lesquels la quercitrine, l'isoquercitrine, une leucoanthocyane, des tanins cathéchiques. Les racines contiennent de l'oxalate de calcium, du mucilage, des stérols, tanins, anthraquinones.

En 1966, le β -sistostérol est isolé. Dans l'espèce ivoirienne de faibles quantités de dérivés anthracéniques, des tanins cathéchiques, de leucopélargonidol, de l'épicatéchol, des flavonols ont été décelés (Kerharo et Adams, 1974). L'écorce est riche en tanins. Les graines contiennent des acides gras dont l'acide palmitique (16.4 - 20.1%), l'acide oléique (16.5 - 31.6). l'acide linoléique(40.9 - 54.0%). La plante contient de grandes quantités de sitostérol (21.5 - 60.5), stigmastérol (21.0 - 32.1%) et campestérol (6.7 - 11.4%) (Miralles et Gaydou, 1986). L'Epiafzelechine a été isolé de l'extrait méthanolique de l'écorce de racines (Waterman et Faulkner, 1979).



Epiafzelechine

Pharmacologie

La composition des folioles peut expliquer leur emploi empirique car elles sont légèrement purgatives par leurs dérivés anthracéniques et surtout diurétiques par la prédominance de leurs flavonoïdes. Les substances mises en évidence dans les racines expliquent, au moins en partie, leur emploi thérapeutique. La présence dans les racines de stérols mucilages et polyphénols cathéchiques ajoutent leur effet à ceux des dérivés rhéiniques et des flavonoïdes. Les extraits de fruits mûrs montrent une certaine activité antibiotique Gram positif (Kerharo et Adams, 1974). Les feuilles et racines à cause de leur richesse en flavonoïdes sont des anti-inflammatoires, des antibactériens, des antidiarrhéiques et diurétiques. Elles présentent aussi un effet spasmolytique chez les animaux d'expérience. Les extraits de feuilles agissent sur *Staphylococcus lutea*, *Proteus sp* et est inactif sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. L'activité sur *Staphylococcus*

aureus est contradictoire. L'activité anti-inflammatoire des feuilles est plus faible et plus lente que celle produite par l'Aspirine (Neuwinger, 1996). Les racines ont montré une action contre les bactéries Gram positif, mais pas contre les Gram négatif et également les champignons. L'action purgative est probablement due aux dérivés anthracéniques (Burkill, 1995). Les tanins contenus dans les feuilles inhibent l'hyperplasie et le développement des marqueurs de tumeur sur la peau des souris *in vivo* (Perchellet et *coll.*, 1996).

5-2-1-2-2 *Hibiscus sabdariffa* L.

Famille: *Malvaceae*

Noms locaux

Français: Oseille de guinée,

Senegal

Thé rose d'Abyssinie

Wolof: bisap, basap

Burkina faso

Peul: touc, foléré badi

Mooré: bito, wegdééré

Mali

Bambara: dâ kumu, dâ

Description botanique

Herbe, sans aiguillon, plus ou moins teinté de pourpre sur le vivant, avec une tige de 0.5 à 2 m de haut, robuste, verte ou rougeâtre suivant les variétés, glabre ou tripside, parfois avec quelques poils tuberculés épineux. Les feuilles sont très variables, ovales, trilobées et même simples sur les rameaux fleuris: le limbe est glabre et denté, mesurant jusqu'à 20 x 10cm, la base est 5-nervée. A la naissance de la nervure médiane, en dessous, on peut observer comme une incision. Les fleurs sont axillaires, de 3 à 4cm de diamètre, caractérisées par un calice à 5 sépales de 3 à 4cm de long dont la couleur verte ou rouge correspond à celle de la tige et par une corolle à cinq pétales jaunes, mouchetées de brun-rouge. Le calice a la propriété de devenir charnu après la chute de la corolle (**Photo 4**). Les fruits sont des capsules coniques de 15 à 25mm de long, atténués en pointe fine et rigide. A maturité le fruit capsulaire est entouré par le calice persistant devenu charnu.

Habitat et situation géographique

La plante serait originaire d'Amérique centrale d'où elle aurait été introduite dans diverses régions tropicales: Indes, Java, Ceylan, Afrique, Antilles etc (Kerharo et Adams, 1974). C'est une espèce pantropicale cultivée ou rudérale dans les régions savanicoles africaines.

Indications en pharmacopée traditionnelle

Au Sénégal, les calices de la variété rose sont utilisés en médecine populaire sous forme de décocté aqueux comme diurétique, diaforétique et cholagogue. La poudre et le décocté de feuilles sont souvent recommandés en usage externe pour les plaies et les blessures (Kerharo et Adams, 1974).

Au Mali, les sépales associés à l'extrait des feuilles fraîches d'*Adansonia digitata* sont utilisées comme potion antiasthmatique (DMT, 1989).

Au Cameroun, l'extrait pris chaud des feuilles sèches est utilisé par voie orale comme anthelmintique (Burkill, 1995). Les calices peuvent être utilisés aussi comme anti-inflammatoires et pour stimuler l'appétit.

Autres utilisations

Au Sénégal et dans d'autres régions d'Afrique de l'ouest, les feuilles sont employées comme légume cuit à la vapeur à la façon des épinards et comme salade. Les calices sont utilisés dans la confection de nombreux plats à base de riz, de mil, de poisson, de viande. Les calices sont employés dans la préparation d'une boisson rafraîchissante (Kerharo et Adams, 1974).

Chimie

La plante renferme de nombreux pigments flavonoïdes: gossypétine, hibiscine, sabdarétine et hétérosides: grossytine, hibiscinine. La racine contiendrait une saponine et de l'acide tartrique. Réanbourg et Monceau signalent la présence de mucilage dans les différents organes et particulièrement dans le calice (Kerharo et Adams, 1974).

La drogue contient des polysaccharides hétérogènes acides et de nombreux composés polyphénoliques et des anthocyanosides. Elle est caractérisée par une forte teneur en acides organiques (15 à 30 %) : acide citrique, malique, tartrique, une lactone de l'acide hydroxycitrique.

Elle contient des polysaccharides mucilagineux et pectines, constitués d'acides uroniques, rhamnose, arabinose et un peu de glucose, xylose et mannose (Bruneton, 1993).

Pharmacologie

L'action antibactérienne a été démontrée *in vitro* sur des *Pasteurella*, *Proteus*, *Entamæba coli*, *Streptococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*, actions qui furent confirmées *in vivo* dans le cas d'infections des voies urinaires chez l'homme (Kerharo et Adams, 1974).

L'extrait aqueux de la plante a un effet inhibiteur sur le tractus intestinal (Ali et *coll.*, 1991)

L'extrait aqueux des calices induit une activité semblable à celle de l'œstrogène chez des rats femelles immatures (Ali et *coll.*, 1989).

L'extrait aqueux de la plante possède des propriétés spasmolytiques. La présence des anthocyanosides lui confère des propriétés angioprotectrices (Bruneton, 1993).



Photo n° 3 : *Cassia sieberiana* L



Photo n° 4 : Calices de *Hibiscus sabdariffa* L.

5-2-

3 *Piliostigma thonningii* (Schum) Milne - Redh

Synonyme: *Bauhinia thonningii* Schum

1-2-

Famille: *Caesalpinaceae*

Noms locaux:

Anglais. Camel's foot

Français: pied-de-boeuf, semellier

Mali

Bambara: nyamamuso

Peulh: harkere

Dogon: tibusaa

Centrafrique

Douma

Description botanique

Arbuste de 5 à 8 mètres de hauteur, à tronc souvent tortueux, à écorce profondément fendillée longitudinalement, brun foncé, fibreuse. Feuilles coriaces, limbes moyens, 9cm de large sur 7cm de long, celles qui viennent des rejets sont nettement plus grandes et ont le dessous couvert d'une pubescence ferrugineuse. La base est cordée, le sommet profondément échancré en V formant 2 lobes terminés en coin large. 13 ou 15 nervures partent toutes de la base qui forme une tache rugueuse de couleur brun foncée. Elles sont très saillantes dessous (**Photo 5**).

Les inflorescences sont petites, saillantes ou terminales, en panicules. Les fleurs sont blanchâtres, groupées en petits racèmes axillaires ou terminaux, à sépales densément bronzés, poilus, ferrugineux, larges de 2cm environ. Un pied ne porte que des fleurs mâles ou femelles. Les fleurs mâles portent 10 étamines, les fleurs femelles un style surmonté d'un stigmate en forme de calotte. Les fruits se présentent en gousse, souvent tordue, de 20 fois 4cm environ, de couleur brun foncée à maturité, à odeur de chocolat, ligneuses, couvertes d'une pubescence compacte ferrugineuse. Les graines sont nombreuses, éparses dans la pulpe.

Cycle végétatif:

L'arbuste fleurit de Mai à Juillet et fructifie peu après. Les gousses sont mûres à partir de Juin et restent longtemps sur l'arbre (Malgras, 1992).

Habitat et situation géographique

Espèce très répandue dans toutes les savanes soudano-guinéennes de l'Afrique intertropicale (Aké et *coll.*, 1978). Au Sénégal par exemple, elle est dans la région soudanienne, mais ne pénètre pas dans le Sahel et exige plus d'humidité (Kerharo et Adams, 1974). Au Mali, elle est présente dans les savanes claires ou boisées en zone soudanienne et soudano-guinéenne; elle colonise les jachères abandonnées (Malgras, 1992). Elle préfère les sols argileux ou graveleux-pierreux, mais pousse souvent sur des sols cultivés (Von Maydell, 1983).

Indications en pharmacopée traditionnelle

En République Centrafricaine, la décoction des feuilles et de l'écorce de tige ou des racines additionnée de piment et de sel est prise en boisson pour guérir la grippe, la bronchite (Aké et *coll.*, 1978).

Au Mali, les racines défibrées sont utilisées comme purgatif; bouillies elles sont utilisées contre la dysenterie, le paludisme, la tuberculose, comme vermifuge. Les racines et feuilles en décoction sont utilisées pour le soin des plaies. Les écorces pilées et séchées sont utilisées dans l'insolation, dans l'épistaxis. La pâte de feuilles fraîches est utilisée dans les ulcères phadégéniques. Les jeunes feuilles mêlées à du sang coagulé de bœuf ou de mouton et réduites en poudre dans la bouillie, sont utilisées contre la toux des femmes en état de grossesse. Les feuilles tendres concassées et macérées dans de l'eau sont utilisées dans les maladies de la peau, l'apparition brusque de boutons. Les feuilles en infusion sont fébrifuges, mâchées ou en décoction elles sont utilisées contre les vertiges. Les rameaux feuillus sont utilisés dans la varicelle, les hémorroïdes en bain de siège. Les sommités des fleurs non épanouies en décoction sont utilisées en instillations dans la conjonctivite, le trachome, la cataracte, en boisson contre le paludisme et l'ictère, en frictions douces contre les ecchymoses des nourrissons. Le gui feuillu en décoction est utilisé en bains et boissons contre l'onchocercose (Malgras, 1992).

En zone sahélienne, les jeunes feuilles sont utilisées dans l'adénite cervicale. Les tiges feuillées de *Piliostigma thonningii* et *Ximenia americana* L. (*Olacaceae*) sont utilisées en décoction dans les démangeaisons filariennes. Dans les gingivites, les feuilles vertes, tendres si possible, sont utilisées. Dans l'héméralopie, les feuilles de *Piliostigma thonningii* et *Walteria americana* Linn (*Sterculiaceae*) sont utilisées après macération. Les vieilles plaies sont traitées avec les feuilles fraîches de la plante associées à des branches sèches de *Diospyros mespiliformis* Hochst (*Ebenaceae*) et des racines d'*Ampelocessus grantii* Planch (*Ampelidaceae*).

Au Cameroun, dans l'Adamaoua, les feuilles, après macération dans l'eau froide sont utilisées comme pansement. Elles y sont aussi un ingrédient pour la composition d'un médicament contre la varicelle (Burkill, 1995).

Autres utilisations

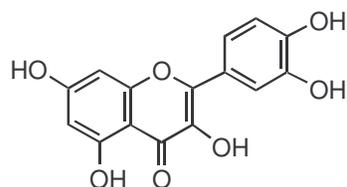
Au Mali, les fibres de l'écorce donne un lien très solide. L'écorce pilée sert à teindre les pagnes en brun rouge. L'enduit de feuilles mâchées est utilisé dans la pêche traditionnelle. Le fruit calciné sert à la préparation des ruches. Le tronc sert de bois d'œuvre et de bois de feu.

Au Sahel, la plante contient une gomme gonflant dans l'eau, apte à calfater. Des racines, on tire des colorants (Von Maydell, 1983).

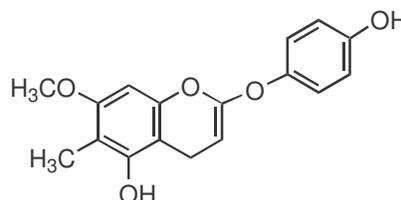
Chimie

Des travaux relativement anciens ont montré la présence de tanins (20%) dans les écorces de tiges et racines ainsi que la présence de traces d'alcaloïdes. La présence de tanins pyrocatechiques, des acides citrique, dextro-tartrique, de pigments de rhamnitol ou 7-méthyl-quercétine a été signalée ainsi que celle de saccharose cristallisé. Il a été aussi noté un caroténoïde et un stéroïde qui n'ont pas été identifiés, ainsi que 4% de mucilage et 0.25% de sucres réducteurs exprimés en glucose (Kerharo et Adams, 1974). L'acide L-tartrique existe dans la plante sous forme d'acide libre et de tartrates de potassium et de calcium.

La piliostigmine, le 2-phénoxychromone et des C-méthylflavonols ont été isolés des feuilles. La quercétine et la quercitrine ont également été isolées (Ibewuike et coll., 1996). Un stigmastadiénol, l'acide trans-communiqué, les dérivés du labdane, l'acide lambertianique, le lambertianol ont été isolés et identifiés (Snatzke et Wolff, 1989).



Quercétine



Piliostigmine

Pharmacologie

Les extraits aqueux d'écorces de tiges de l'espèce nigériane présentent une certaine activité contre *Sarcina lutea*, aucune contre *Staphylococcus aureus* et *Mycobacterium phlei* (Kerharo et Adams, 1974; Burkill, 1997). Des flavonoïdes ont été identifiés dans les feuilles de *Piliostigma thonningii*: quercétol, quercétol-3-glucoside, quercitroside (Bombardelli et coll., 1973).

L'épicatéchine, le proanthocyanidine B2 et les oligomères catéchiques ont été isolés des écorces de racines, des écorces du tronc et feuilles de la plante à partir desquels 3 extraits purifiés avaient été préparés. Les essais pharmacologiques primaires montraient qu'ils étaient dotés d'une activité antitussive confirmée par l'usage en médecine traditionnelle en Afrique (Bombardelli et coll., 1994).

L'extrait éthanolique de l'écorce de la plante a montré une action anti-helminthique puissante dose-dépendante sur *Ascaridia galli* infectant les jeunes coqs par stimulation de la jonction neuromusculaire principalement et le ganglion à un degré moindre (Asuzu et Onu, 1994).

La toxicité de l'écorce de *Piliostigma thonningii* a été testée *in vitro* par administration d'un extrait éthanolique sur des larves de strongyle du chat. La composition en acides aminés des graines de la plante a été identifiée.

L'activité antihelminthique du D-3-O-méthylchiroinositol isolé de l'écorce de tige de la plante a été démontrée (Asuzu et Onu, 1993).

La fraction acétate d'éthyle des feuilles contient des C-méthylflavonols responsables des activités antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et anti-inflammatoire (Ogundaini, 1999).

Des préparations contenant des extraits de la plante ont une action dans les pathologies d'origine virale comme l'*Herpes influenza*, les maladies broncho-pulmonaires et elles ont également prouvé une action sur le virus du sida VIH (Bombardelli et coll., 1995).

L'extrait méthanolique à 60% de l'écorce du tronc a montré une activité contre 6 bactéries à la concentration de 20mg/ml. Ce sont: *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*.

Les proanthocyanidines contenus dans l'extrait de la plante possède une action inhibitrice sur le glutathion S-tranfêrase des parasites nématodes comme *Ascaris* et *Onchocerca* (Fakae B.B. et coll., 2000).

5-2-1-2-4 *Prosopis africana* (Guill et Perr) Taub

Synonymes: *Coulteria africana* (Guill et Perr)

Prosopis oblonga (Benth)

Famille: *Mimosaceae*

Noms locaux:

Anglais: ironwood

Français: arbre des forgerons

Mali

Sonrhâï: zanturi

Bambara: gwele

Fula: tidene

dogon: kilena

Niger

Hausa: kirya

Zarma: zam-turi

Peulh: koky

Cameroun

Fula: koki

Kpe: jondo

Sénégal

Wolof: ir

Serere: sombo, ngol, som

Description botanique

Arbre de 12 à 15m, à fût droit, cylindrique, robuste, à écorce brun clair, crevassée à écailles irrégulières noirâtres. Feuilles bipennées de 2 à 4 paires opposées avec une glande à l'insertion de chacune d'elles ,6 à 12 paires de foliolules lancéolées elliptiques, mucronées jusqu'à 2 cm de long et 0.8 cm de large, finement pubescentes sur les deux faces. Fleurs sont blanc crèmes ou jaunâtres en épis axillaires, parfumées. Les fruits sont sous de gousses ligneuses pendantes brun rouge à noir brillant, à maturité, épaisses, de 10 à 12 cm de long sur 1.5 à 2cm de diamètre, transversalement circulaires ou ovales dans la plus grande largeur (**Photo 6**). Les graines sont libres dans les loges et font un bruit caractéristique de grelot à maturité quand on secoue les fruits.

Cycle végétatif

Le feuillage apparaît en Janvier, la floraison de Février à Mai, les fruits en saison pluvieuse (Eyog Matig et *coll.*, 1990). La maturité des fruits se poursuit jusqu'à Février-Mars et ils demeurent longtemps sur l'arbre, jusqu'en Juin (Malgras, 1992).

Habitat et situation géographique

Prosopis africana est présente dans la forêt de savane, un peu dans la zone du Sahel, du Sénégal jusqu'au nord et sud du Nigeria et très courant à travers l'Afrique équatoriale, au Soudan, au Zaïre (Adjanohoun et *coll.*, 1980; Burkill, 1995). Au Mali, elle est disséminée en zone sahélo-soudanienne et soudanienne et jusqu'en zone sudano-guinéenne. Elle est localisée dans les forêts sèches ou forêts claires dans la zone centrale traversée par le cours du Bafing et du Banifing (Malgras, 1992). Elle se développe souvent sur jachère, sur latérite (Von Maydell, 1983). Elle affectionne les sols sablo-argileux couvrant les sédiments latéritiques ou les terrains sableux surplombant les vallées (Eyog Matig et *coll.*, 1990).

Indications en pharmacopée traditionnelle

Au Sénégal, les racines et plus particulièrement celles des jeunes plantules auraient une excellente action dans diverses affections urinaires, comme diurétique général, mais aussi comme diurétique spécifique (favorisant l'élimination des urates, oxalates, urée etc...) voire même comme diurétique anti-inflammatoire et désinfectant (cystites, gonococcies) (Kerharo et Adams, 1974; Neuwinger, 1996). Elles combattent la blennorragie, la dysenterie. Les écorces et racines sont utilisées dans les maux de ventre comme antidiarrhéique, vermifuge. Les cataplasmes de feuilles ainsi que les bains de vapeur à base de racines sont utilisés dans différentes dermatoses et parasitoses externes, mycoses, filarioses. Des applications de feuilles bouillies et encore chaudes

donnent de bons résultats au cours des migraines, vertiges, la teigne, les maux d'yeux, d'oreilles, de dents et la fétidité de l'haleine (Kerharo et Adams, 1974).

Au Mali, l'écorce du tronc serait très active contre les abcès dentaires. Les rameaux feuillus en décocté sont utilisés en cas d'insuffisance hépatique, cancer du foie, hypertension, cataracte. Les feuilles auxquelles est ajoutée l'écorce est efficace contre les rhumatismes. Les racines tendres mâchées sont utilisées contre l'enrouement; réduites en poudre avec des racines de *Tamarindus indica* elles combattent l'impuissance sexuelle; en décoction elles sont diurétiques, anti-inflammatoires. Les feuilles en infusion (gargarismes) sont utilisées dans les affections de la bouche, les stomatites, les aphtes (Malgras, 1992).

Au Niger, la poudre de feuilles est utilisée comme antipyrétique chez l'enfant. L'écorce du tronc est utilisée en association ou seule contre les douleurs abdominales et en cas d'hémorroïdes. En cas de fièvre, faire une décoction à partir de l'écorce de tronc de *Prosopis africana* associée aux tiges et écorce des racines de *Cassia sieberiana* (Adjanohoun et coll., 1980).

Au nord ouest du Nigéria, le peuple *salka* prend une infusion contre la diarrhée. A Ibadan, la racine est un cure-dent populaire pour son effet sur la carie dentaire. Dans l'état de Kaduna, la plante est utilisée en cas de trypanosomiase (Burkill, 1995).

Autres utilisations

Les rameaux sont utilisés par les éleveurs car ils constituent un bon fourrage. Le bois fournit un charbon de bonne qualité qui sert pour la fabrication des pilons, tablettes, mortier (Eyog Matig et coll., 1990). Les fleurs constituent une source de nectar et de pollen pour les abeilles. L'écorce des racines est utilisée pour le tannage (Malgras, 1992).

Au Soudan, la cosse des fruits est écrasée, bouillie et utilisée comme poison de pêche.

Au Niger, il est utilisé comme bois de revêtement pour les murs.

Au Mali, le bois dur sert à fabriquer les manches pour outils. Le charbon de bois est apprécié (Burkill, 1995).

Chimie

Il a été signalé dans les écorces une teneur en tanins de 14 à 16% (Burkill, 1995). Ce sont généralement des tanins catéchiques. De l'analyse diététique des graines il ressort une richesse en glucides (68%) et en acide glutamique (19% des aminoacides totaux) (Kerharo et Adams, 1974). Plusieurs alcaloïdes ont été isolés des feuilles. Ce sont trois dérivés de la pipéridine à savoir la prosopine, la prosopinine, le DL-prosophylline, la prosoprine, la prosoprinine (Neuwinger, 1996). L'écorce des racines contient des tanins ainsi que les gousses de fruits lorsqu'elles sont mures. Les graines ne sont pas particulièrement riches en huile (1-7%), huile renfermant surtout l'acide oléique 46% et acide linoléique 33% (Burkill, 1995). L'isoprine A et B ont été isolées des racines de la tige. Les graines contiendraient 25.7% de protéines, les feuilles, le tronc et les racines contiennent la prosopine et la prosopinine (Neuwinger, 1996).

Pharmacologie

La prosopine et la prosopinine ont été étudiées. La prosopine est toxique par voie intraveineuse (DL50=87.5mg/kg chez la souris). Elle est un léger excitant du système nerveux central dont l'action s'exerce au niveau des centres moyens et supérieurs. Elle possède une activité anesthésique locale prouvée par instillation sur la cornée de lapin d'une solution de prosopine à 0.5%. Elle possède une légère action hypertensive (Neuwinger, 1996)..

La prosopinine présente une toxicité aiguë (DL50=57.5mg/kg chez la souris). Elle possède une action sédatrice sur le système nerveux et n'exerce aucune activité anticonvulsivante. Son activité anesthésique locale est intéressante aussi bien en surface qu'en infiltration. Elle possède une action spasmolytique sur la fibre musculaire lisse. Elle possède une activité antibiotique sur *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Trichomonas vaginalis*, *Escherichia coli*, mais pas sur *Trichophyton rubrum* et *Candida albicans* (Kerharo et Adams, 1974). La prosopinine ne possède pas d'activité antipaludique et anti-amibienne. Le

chlorhydrate de prosopinine est mal toléré par la muqueuse rectale et muqueuse gastrique de l'homme (Kerharo et Adams, 1974).

Au Nigeria dans la région d'Ibadan, les racines n'ont montré aucune action antibiotique.

Les alcaloïdes isolés des feuilles de *Prosopis africana* possèderaient une action antibiotique, anesthésique et des propriétés sur le système nerveux central.

Prosopis africana possède une activité anti-tyrosinase intéressante sur les champignons *in vitro*.



Photo n° 5 : *Piliostigma thonningii* (Schum) Milne - Redh



Photo n° 6 : *Prosopis africana* (Guill et Perr) Taub

5-2-1-2-5
Stylosanthes

erecta P. Beauv

Synonyme: *Stylosanthes guineensis* Schum. et Thonn.

Systematique

Embranchement: Spermaphytes (Phanérogames) ou “plantes à graines”

Sous-embranchement: Angiospermes (Plantes à fleurs)

Classe: Dicotylédones (Magnolopsida)

Sous-classes: rosidae

Ordre: Fabales

Familles: *Fabaceae*

Noms locaux

Mooré: sakwisabelga

Hausa: tsirahoko

Manding: mbonomusu

Peulh: elingi

Bambara: ségou fali

Wolof: damel, mbol

Description botanique

Plante herbacée dressée vivace, haute de 20 à 40 cm . Elle ressemble aux *Indigofera* mais son feuillage est peu abondant. Les tiges adultes ont au plus un rang de poils situés longitudinalement (**Photo 7**). Les feuilles sont trifoliées . Les folioles sont elliptiques, lancéolées, à base cunéiforme et sommet mucroné. Elles sont glabres, montrant parfois une nervure médiane ciliée dessous. Le pétiole a 10 à 15 mm, les pétiolules 1 mm, les stipules sont embrassantes , surmontées de 2 pointes filiformes de 3-4 mm. L’inflorescence se présente en épi terminal de 1.5 cm, court, constitué de nombreuses bractées ciliées , desquelles émergent les fleurs. Les fleurs sont jaunes clair, à corolle large de 4 à 5 mm, l’étendard jaune clair, avec au centre, quelques stries rouges. Les ailes sont jaune foncé, la quille verdâtre. Les fruits se présentent en gousse courte réticulées, glabres, comprenant un ou deux articles orbiculaires rarement pubescents.

Habitat et situation géographique

Plante originaire d'Afrique poussant en climat subtropical humide, tropical pluvieux. La plante est très répandue du Sénégal au Nigéria et s'étend du Cameroun à l'Angola et l'Afrique du sud (Adjanohoun et coll.,1980; Burkill,1995). A pointe noire au Congo, elle est rencontrée dans l'embouchure du Kouilou-Niari (à 46km N-NE) (Adjanohoun coll.,1988). Elle se localise dans les secteurs littoraux sablonneux (Kerharo et Adams,1974). Elle est très résistante à la sécheresse et pousse sur les terrains accidentés (Burkill,1995). Elle préfère les sols profonds de basse fertilité, de pH 4.5 à7.1.

Indications en pharmacopée traditionnelle

Au Sénégal elle est reconnue comme médicament contre la toux. La racine est utilisée comme revigorant dans la région, elle constitue un ingrédient dans les prescriptions aphrodisiaques (Burkill,1995). Le décocté des feuilles serait béchique et celui des racines revigorant (Kerharo et Adams,1974).

En Gambie et au Nigeria, une infusion de la plante entière est utilisée contre le froid (Burkill, 1995).

Au Nigeria, la fumée odorante produite par une pipe est soufflée sur les plaies de flèche comme antidote contre le poison. Une décoction des racines ou des feuilles est utilisée en bain quotidien pour l'enfant pour lui permettre de marcher tôt (Burkill, 1995).

Au Niger, la partie aérienne est utilisée en décoction pour favoriser le développement des nourrissons et, en association avec d'autres plantes comme antipyrétique (Adjanohoun, 1980).

Au Togo et au Bénin les feuilles de *Stylosanthes erecta*, de *Waltheria indica* L. (*Sterculiaceae*) et *Momordica charantia* L. (*Cucurbitaceae*) sont utilisées en décoction aqueuse contre les céphalées (Le Bras, 1989).

Au Mali, le décocté est utilisé dans le traitement des leucorrhées, la gonococcie, la bilharziose et les vulvo-vaginites (Sanou, 1997). La décoction de la plante entière ou des tiges feuillées est utilisée contre les démangeaisons filariennes et les dermatoses (De la Pradilla, 1981).

Autres utilisations

La plante est utilisée comme fourrage. Elle est broutée par le bétail. La plante a des valeurs en superstition comme protection contre les armes aiguisées. Pour cela, la racine est portée habituellement comme bracelet ou charme (Burkill, 1995).

Chimie

La plante a montré la présence de tanins, composés réducteurs, oses et holosides. Elle contient également des mucilages, des hétérosides stéroïdiques et triterpènes, des leucoanthocyanes (Sanou, 1997).

Pharmacologie

***Stylosanthes erecta* a montré une activité antifongique sur *Candida albicans* à la concentration de 60 mg/ml (Keita, 2002). L'extrait alcoolique des racines contient des stéroïdes possédant des propriétés virilisantes (Sanou, 1997).**

5-2-1-2-6 *Tamarindus indica* L.

Synonyme: *Tamarindus occidentalis* Gaertn

Tamarindus officinalis Hook

Famille: *Caesalpiniaceae*

Noms locaux

Anglais: Tamarind, Indian date

Français: Tamarinier

Tchad

Ngambay: Mahss

Niger

Hausa: tsamia

Zarma: bôsey

Mali

Bambara: Ntomi, domi

Description botanique

Arbre à cime dense, écorce grise crevassée à écailles rectangulaires.

Les feuilles sont paripennées à folioles opposées étroites.

Les fleurs sont oranges veinées de brun en panicules terminales.

Son fruit est une gousse indéhiscente à mésocarpe charnu, renferme 4 à 12 graines. Il est brun-vert, puis noirâtre et luisant (**Photo 8**).

Cycle végétatif:

Le feuillage est tardif en Février, les fleurs apparaissent en Mars-Avril, les fruits d'Avril à Juillet.

Habitat et situation géographique

L'espèce est originaire de Madagascar, mais très répandue dans les savanes soudano-guinéennes et soudaniennes, jusqu'au abords du Sahel. Au Mali, l'espèce s'étend jusqu'à la région de Gao au nord.

Indications en pharmacopée traditionnelle

Au Senegal, les fruits sont utilisés comme laxatifs. Ils sont également utilisés comme purgatif doux, fébrifuge, dans le traitement des gonococcies en association avec *Prosopis africana* (Kerharo et Adams, 1974).

Au Mali, le décocté des racines est donné aux bébés qui refusent de têter. Les racines et feuilles en décoction sont utilisées en cas de paralysie, de conjonctivite, pour le soin des yeux.. L'écorce du tronc réduite en poudre est utilisée dans l'ictère, les hépatites, la cirrhose du foie (Malgras, 1992).

Au Niger, les fruits sont utilisés dans les douleurs abdominales. Les feuilles sont utilisées dans les abcès du sein, le rhume (Adjanohoun et coll., 1980).

En République Centrafricaine, les jeunes feuilles soulagent en cas rhumatisme et l'écorce de tige est utilisée comme pansement cicatrisant (Aké et coll., 1978).

Autres utilisations

Les feuilles et fleurs constituent un fourrage de haute valeur. Les fruits mûrs sont utilisés dans la préparation de boisson rafraîchissante et de la bouillie. Le bois sert à fabriquer des outils.

Chimie

La pulpe, de couleur brun rougeâtre et de saveur douce et acidulée, est riche en pectine et en sucres simples (20-40 %). Elle renferme également 10-15% d'acides organiques composés de : acide citrique, malique, tartrique. La graine renferme des lipides, des hydrates de carbone (Kerharo et Adams, 1974). Elle renferme 65-70% de polysaccharides dont le polymère de réserve est une molécule complexe formée de D-glucose liés β -(1 \rightarrow 4), substitué sur les positions 6 par des restes xylosyl, arabinosyl et galactosyl. L'odeur est liée à la présence de composés monoterpéniques et aromatiques et à celle du pyrazine (Bruneton, 1993).

Pharmacologie

La pectine du fruit et de la graine possède une bonne activité bactéricide principalement vis-à-vis des bacilles Gram négatif et antifongique (Kerharo et Adams, 1974).

L'extrait méthanolique des graines fraîches a montré une activité antioxydante.

L'extrait éthanolique à 95% des feuilles fraîches démontre une activité spasmolytique. Les fruits servent à préparer des sirops utilisés comme boissons rafraîchissantes et comme laxatifs.

La gomme du tamarin est souvent employée par certaines industries non alimentaires pour sa capacité à former des solutions visqueuses à comportement pseudo-plastique (Bruneton, 1993).



Photo n° 7 : Bottes de *Stylosanthes erecta* P. Beauv



Photo n° 8 : Fruits de *Tamarindus indica* L.

5-2-2 Les extraits

Les rendements, l'aspect et la couleur des extraits et fractions obtenus à partir des drogues de chaque recette et de chaque plante sont reportés dans les tableaux qui suivent:

Tableau n°9: Rendements, aspect et couleur des extraits aqueux lyophilisés obtenus à partir des recettes.

Plantes	Drogues	Plante associée	10%	20%	Aspect couleur et
<i>Cassia sieberiana</i>	Feuilles	<i>Tamarindus</i>	19.35	17.7	Paillettes jaunâtre
<i>Piliostigma thonningii</i>	Ecorces de tronc	<i>Tamarindus</i>	20.55	20.6	Paillettes marron-orangé
<i>Prosopis africana</i>	Ecorces de racines	<i>Tamarindus</i>	16.9	18.85	Paillettes marron-orangé
<i>Stylosanthes erecta</i>	Parties aériennes	<i>Tamarindus</i>	11.9	13.35	Paillettes vert-jaunâtre
<i>Stylosanthes erecta</i>	Parties aériennes	<i>Hibiscus</i>	14.4	23.8	Paillettes violet

En général, les recettes à 20% ont donné des rendements plus élevés que les recettes à 10% sauf pour *Cassia sieberiana*. Pour les recettes à 10%, la recette avec *Piliostigma thonningii* a donné le rendement le plus élevé. Pour les recettes à 20%, la recette *Stylosanthes erecta* + *Hibiscus sabdariffa* a donné le rendement le plus élevé.

Tableau n° 10. : Rendements, aspect et couleur des extraits lyophilisés obtenus à partir des drogues de chaque plante

Plante	Drogues	Décocté	Macéré	Ethanol 80°	Aspect et couleur
<i>Cassia sieberiana</i>	Feuilles	11.15	13.05	18.85	Paillettes verdâtre
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Calices	34.8	60	36.8	Paillettes rouge cerise
<i>Piliostigma thonningii</i>	Ecorces du tronc	17	18.05	17.9	Paillettes marron
<i>Prosopis africana</i>	Ecorces de racines	7.9	17.85	28.95	Paillettes marron clair
<i>Stylosanthes erecta</i>	Parties aériennes	7.8	11.45	6.65	Paillettes verdâtre
<i>Tamarindus indica</i>	Fruits	15.15	23.55	20.6	Collant orangé

Les rendements des macérés à l'eau sont plus élevés que ceux des décoctés pour chaque plante sauf *Cassia sieberiana*. *Hibiscus sabdariffa* a donné les rendements les plus élevés pour les 3 types d'extraction. L'extrait éthanolique de *Stylosanthes erecta* a donné le rendement le plus faible.

Tableau n° 11: Rendements, aspect et couleur des fractions et extraits organiques obtenus pour recette à 20% de *Stylosanthes erecta*+ *Tamarindus indica* (SET)

Fractio ns	Rendement en %	Aspect et couleur
DCM	0.1	collant jaune-verdâtre
Acétate d'éthyle	1.6	collant brun sombre
Butanol	6.3	collant jaune-verdâtre
Aqueuse	66.4	poudre marron
Extraits		
DCM	2.69	collant vert sombre
Méthanol	7.04	collant jaune-verdâtre
Digesté	3.12	paillettes brunes
Décocté épuisé	3.86	paillettes marron

Tableau n°12: Rendements, aspect et couleur des extraits et fractions de la recette à 20% de *Stylosanthes erecta*+ *Hibiscus sabdariffa* (SEH)

Fractions	Rendement en %	Aspect et couleur
DCM	0.8	collant verdâtre
Acétate d'éthyle	1	collant marron
Butanol	2.75	collant rouge cerise
Aqueuse	62.75	paillettes rouge cerise
Extraits		
DCM	2.24	collant vert sombre
Méthanol	8	collant rouge cerise
Digesté	2.4	paillettes rouge cerise
Décocté épuisé	4.92	paillettes rouge cerise

Pour les fractions, le rendement décroît de la fraction aqueuse à la fraction DCM pour les deux recettes. Les fractions obtenues avec la recette SET sont plus élevées que celles obtenues avec la recette SEH pour chaque fraction, sauf pour la fraction DCM. Les extraits méthanoliques ont donné les rendements les plus élevés pour les deux recettes, suivi par les décoctés épuisés, les digestés et les extraits DCM pour chaque recette.

5-2-3 Données phytochimiques

5-2-3-1 Réactions de caractérisation

Tableau n° 13 :Résultats des réactions de caractérisation sur les recettes et les plantes.

Recherches	CS	CST	PA	PAT	PT	PTT	SE	SET	SEH
Coumarines	++++	++++	-	-	-	-	+	+++	+++
Caroténoïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antracénosides	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoïdes	+++	+	++	-	+	-	++	-	-
Catéchols	-	-	-	++++	-	-	++	+++	-
Alcaloïdes	-	-	++++	++++	-	-	-	-	-
% Alcaloïdes	-	-	4%	2%	-	-	-	-	-
Saponosides: mousse	+++	++++	++++	++++	+	-	++	+	+
Saponosides: indice	142.8	250	1000	1000	-	-	-	-	-
Tanins	++++	++++	+++	+++	++++	++++	++	++	++
Tanins catéchiqes	++++	+++	+++	+++	++++	++++	++	++	++
Tanins galliques	-	-	-	-	++	-	+++	-	-
Composés réducteurs	++++	-	++	-	-	-	-	-	-
Oses et Holosides	-	-	++++	++++	++++	++++	-	++++	++++
Polyuronides (Mucilages)	++	+++	-	++++	++	++	++++	++++	++++
Stérols et Triterpènes	++++	-	++++	++++	++	++	++	+++	+++
Stérols et Triterpènes Sté	+++	-	++++	++++	++	++	++	+++	+++
H. Cardiotoniques (R.-M.)	++	-	++	++++	++++	++++	+++	-	+++
H. Cardiotoniques (Kedde)	+	-	-	-	++	-	-	-	-
H. Cardiotoniques (Baljet)	+++	++++	-	-	++++	-	++	+++	+++
Anthocyanes	-	-	+	+	-	-	-	-	++
Leucoanthocyanes	++++	++++	-	-	++++	++++	-	-	+++

CS: *Cassia sieberiana*, PA: *Prosopis africana*, PT: *Piliostigma thonningii*, PTT: *Piliostigma thonningii*; SE: *Stylosanthes erecta*, H: *Hibiscus*, T: *Tamaridus* (-) Absence; (+): Présence; (++) : Abondant; (+++): Très abondant; (++++): Très très abondant.

Aucune de nos plantes et recettes ne contient des caroténoïdes. Seule *Prosopis africana* contient des alcaloïdes. La mousse est abondante dans *Prosopis africana*. Toutes les plantes et recettes contiennent des tanins, (surtout les tanins galliques), les mucilages, les stérols et triterpènes et les hétérosides cardiotoniques.

Certains composés présents dans les plantes, ne se retrouvent pas dans les recettes:

Pour *Cassia sieberiana*, les composés réducteurs, les stérols et triterpènes, les hétérosides cardiotoniques ne sont plus présents dans les recettes.

Pour *Prosopis africana*, les flavonoïdes, les composés réducteurs sont absents dans les recettes.

Pour *Piliostigma thonningii*, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins galliques, les hétérosides cardiotoniques sont absents dans les recettes.

Pour *Stylosanthes erecta*, les flavonoïdes et les tanins galliques ne se retrouvent pas dans les deux recettes, ainsi que les catéchols pour SEH et les hétérosides cardiotoniques pour SET.

Par contre, nous observons l'apparition ou l'intensification de la coloration pour des composés dans les recettes: Dans les recettes CST, SET et SEH, nous notons une augmentation des mucilages et des coumarines respectivement. Dans la recette PAT, nous retrouvons des catéchols et des mucilages que la plante ne contenait pas. Les oses et holosides apparaissent dans les deux recettes de *Stylosanthes erecta*. Les anthocyanes et leucoanthocyanes apparaissent dans la recette *Stylosanthes erecta* plus *Hibiscus sabdariffa*.

5-2-3-2 Substances extractibles

Les substances extractibles par l'eau ont été respectivement de 31,64% pour *cassia sieberiana*, 12 % pour *Prosopis africana*, 27,23% pour *Piliostigma thonningii* et 20,43% pour *Stylosanthes erecta*. Pour les deux recettes à 20% de *Stylosanthes erecta* nous avons eu respectivement 13,83% avec le *Tamarindus indica* et 10,83% avec *Hibiscus sabdariffa*.

5-2-3-3 Dosages de l'eau

Les teneurs en eau des drogues par la méthode de l'entraînement azéotropique ont été respectivement 6, 8, 6 et 4% pour *Cassia sieberiana*, *Piliostigma thonningii*, *Prosopis africana* et *Stylosanthes erecta*.

5-2-3-4 Chromatographie sur couche mince

Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits des parties de chaque plante et de leur recette sont reportés au **chromatogramme n°1 et 2** et dans les tableaux qui suivent (**Tableau n° 14 à Tableau n° 28**). Chaque tableau comprend les informations sur le facteur de rétention (Rf), l'observation à la lumière UV (à 254 nm, et la fluorescence 366 nm) et les différentes colorations après révélation avec les réactifs de Godin, du Chlorure d'aluminium, du chlorure ferrique et du Dragendorff.

Tableau n° 14: Résultats de la chromatographie sur couche mince du décocté à l'eau de *Cassia sieberiana* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

N°	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	AlCl ₃	FeCl ₃
1.	0.13		Bleu		
2.	0.17	visible	Bleu		
3.	0.20	visible	Bleu		
4.	0.25		Bleu		
5.	0.27	visible	Vert		
6.	0.31	visible	Bleu		
7.	0.33	visible	Marron		
8.	0.37		Marron		
9.	0.40	visible	Orange	Orange	
10.	0.42		Orange	Bleu	
11.	0-47		Violet		
12.	0.50	visible	Bleu		
13.	0.53		Vert	Vert	
14.	0.55	visible	Bleu		
15.	0.60	visible	Vert		
16.	0.63	visible	Marron		
17.	0.66	visible	Vert		
18.	0.68	visible	Bleu	Jaune	
19.	0.75	visible	Marron		Gris
20.	0.80		Vert		
21.	0.83	visible	Orange		
22.	0.86		Marron		Gris
23.	0.91		Marron		
24.	0.95		Bleu	violet	

Aucune tache ne réagit avec le réactif de Godin. Les taches avec Rf 0,4, 0,42, 0,53, 0,68 sont probablement des flavonoïdes, elles réagissent avec le chlorure d'aluminium. La coloration grise des taches aux Rf 0.75 et 0.86 nous oriente vers les tanins.

Tableau n° 15: Résultats de la chromatographie sur couche mince du macéré à l'eau de *Cassia sieberiana* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

N°	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	AlCl ₃	FeCl ₃
1	0.13	Visible	Bleu		
2	0.16	Visible	Bleu		
3	0.20	Visible	Vert		
4	0.22	Visible	Vert		
5	0.25	Visible	Bleu		
6	0.28	Visible	Bleu		
7	0.30	Visible			
8	0.33	Visible	Marron		
9	0.38	Visible	Marron	Orange	
10	0.42	Visible	Bleu		
11	0.46	Visible	Bleu	Bleu	
12	0.50	Visible	Bleu	Vert	
13	0.55	Visible	Vert		
14	0.65	Visible	Marron		Gris
15	0.73	Visible	Marron		Gris
16	0.77	Visible	Bleu		
17	0,80	Visible	Vert		
18	0,83	Visible	Orange		
19	0.85	Visible	Bleu		
20	0.88	Visible	Orange		
21	0.90	Visible		Orange	

Toutes les taches sont visibles à l'UV 254 nm et on rencontre une prédominance de constituants avec une fluorescence bleue ou verte. Seulement 4 constituants donnent une fluorescence après révélation avec le AlCl₃, comme font les flavonoïdes Les taches aux Rf 0.65 et 0.73, se colorent en gris avec le réactif des tanins (FeCl₃).

Tableau n° 16: Résultats de la chromatographie sur couche mince du macéré éthanolique de *Cassia sieberiana* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

N°	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
1	0.16	Visible	Bleu			
2	0.20	Visible	Vert			
3	0.23		Vert	Verdâtre		
4	0.27	Visible	Bleu			
5	0.30	Visible				
6	0.33	Visible	Bleu			
7	0.35		Marron			
8	0.38	Visible	Marron		Orange	
9	0.41		Bleu			
10	0.46		Bleu		Bleu	
11	0.50		Orange		Orange	
12	0.56	Visible	Vert		Vert	
13	0.60	Visible	Marron			
14	0.63	Visible				
15	0.68	Visible	Marron			
16	0.75	Visible	Marron			Gris
17	0.78		Vert		Vert	
18	0.81	Visible	Orange			Gris
19	0.83		Bleu		Bleu	
20	0.88		Orange		Orange	
21	0.90		Rouge			
22	0.93					
23	0.95		Rouge			

L'extrait éthanolique présente sept constituants qui donnent une fluorescence après révélation avec le AlCl₃, plus riche en constituants flavoniques. Les taches aux Rf 0.75 et 0.81 se colorent en gris avec le réactif des tanins (FeCl₃).

Tableau n° 17: Résultats de la chromatographie sur couche mince de la recette à 10% de *Cassia sieberiana* + *Tamarindus indica* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

N°	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
1	0.12		Bleu			
2	0.16	Visible	Bleu			
3	0.18		Vert			
4	0.21	Visible		Verdâtre		
5	0.23	Visible	Bleu			
6	0.25		Bleu			
7	0.28	Visible				
8	0.32	Visible	Bleu			
9	0.35		Marron			
10	0.38	Visible	Orange		Orange	
11	0.42		Bleu			
12	0.46		Bleu		Bleu	
13	0.50		Vert		Vert	
14	0.53		Vert			
15	0.55	Visible	Bleu			
16	0.66	Visible	Marron			Gris
17	0.73	Visible	Marron			Gris
18	0.78		Bleu			
19	0.80	Visible	Bleu			
20	0.82		Orange			
21	0.85		Bleu			

La majorité des taches présente une fluorescence à l'UV 366 nm et on rencontre une prédominance de constituants avec une fluorescence bleue ou verte. Seulement trois constituants donnent une fluorescence après révélation avec le AlCl₃, Les taches aux Rf 0.66 et 0.73, se colorent en gris avec le réactif des tanins (FeCl₃).

Tableau n° 18: Résultats de la chromatographie sur couche mince de la recette à 20% de *Cassia sieberiana* + *Tamarindus indica* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
1	0.16	Visible	Bleu			
2	0.18		Vert			
3	0.20	Visible	Bleu			
4	0.22			Verdâtre		
5	0.26	Visible	Vert			
6	0.28	Visible	Bleu			
7	0.32	Visible	Bleu			
8	0.35		Marron			
9	0.37	Visible	Orange		Orange	
10	0.42		Bleu			
11	0.46		Marron		Bleu	
12	0.48	Visible	Bleu			
13	0.50		Bleu		Vert	
14	0.53		Vert			
15	0.55	Visible	Vert			
16	0.61	Visible	Marron			
17	0.66	Visible	Marron			Gris
18	0.73	Visible	Marron			Gris
19	0.77		Bleu			
20	0.81	Visible	Orange			
21	0.85		Vert			

Nous retrouvons presque les mêmes informations que dans le tableau précédent.

Tableau n° 19 : Résultats de la chromatographie sur couche mince du décocté et du macéré à l'eau et du macéré éthanolique de *Piliostigma thonningii* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃		
<i>Décocté à l'eau de Piliostigma thonningii</i>							
0.13	visible	Vert	Verdâtre	Vert	Gris		
0.16	visible	Vert					
0.22							
0.23		Bleu					
0.26	visible	Bleu		Bleu			
0.31							
0.32	visible						
0.42	visible						
0.46	visible						
0.48	visible						
<i>Macéré à l'eau de Piliostigma thonningii</i>							
0.16	visible	Vert	Verdâtre	Vert	Gris		
0.21		Vert					
0.22		Bleu					
0.26		Bleu					
0.28	visible			Bleu			
0.31	visible						
0.41	visible						
0.42		Bleu					
<i>Macéré éthanolique de Piliostigma thonningii</i>							
0.13	Visible	Vert		Verdâtre		Gris	
0.16	Visible	Vert					
0.23							
0.26	Visible	Bleu					
0.32		Bleu					
0.33	Visible	Marron					
0.43	Visible	Vert					
0.46	Visible	Bleu					
0.75	visible						
0.81	visible						
0.82	visible	bleu					
0.85		Bleu					
0.87	visible						

Le décocté à l'eau présente de nombreuses taches visibles à UV 254 nm. Les deux extraits aqueux présentent les mêmes fluorescences à UV 366 nm. Le décocté et l'extrait éthanolique présentent une tache grise avec le réactif des tanins. L'extrait éthanolique est plus riche en constituants que les deux extraits aqueux.

Tableau n° 20: Résultats de la chromatographie sur couche mince des recettes à 10% et à 20% de *Piliostigma thonningii* + *Tamarindus indica* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
Recette à 10% de <i>Piliostigma thonningii</i>					
0.16	Visible	Vert	Verdâtre	Bleu	Gris
0.21		Vert			
0.27	Visible				
0.31					
0.33	Visible	Marron			
0.45	Visible				
0.50	Visible				
0.61			Violet		
0.65		Vert			
0.81	Visible				
0.87	Visible				
Recette à 20%					
0.13	Visible	Vert	Verdâtre	Bleu	Gris
0.16	Visible	Vert			
0.22					
0.26	Visible	Bleu			
0.32	Visible				
0.33	Visible	Marron			
0.43	Visible	bleu			
0.46	Visible				
0.50	Visible				
0.81	Visible				
0.87	Visible				

La recette à 20% présente plus de taches visibles à UV 254 nm. Les deux recettes présentent surtout une fluorescence verte à UV366 nm. Le réactif de Godin semble confirmer la présence de stérols et triterpènes dans les recettes. La tache à Rf 0,33 réagit au chlorure ferrique, probablement un tanin.

Tableau n°21: Résultats de la CCM du décocté et du macéré à l'eau et du macéré éthanolique de *Prosopis africana* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	Dragendorff
Décocté à l'eau de <i>Prosopis africana</i>						
0.13	Visible					
0.16	Visible	Vert				
0.20		Vert				
0.23	Visible	Marron	Verdâtre	Vert		
0.25	Visible	Marron				
0.30	Visible	Marron		Vert		
0.33	Visible	Marron				
0.36	Visible	Marron		Vert		
0.40	Visible	Vert				
0.58						Marron
0.61			Violet	Vert		
0.67	Visible					
Macéré à l'eau de <i>Prosopis africana</i>						
0.16	Visible	Bleu				
0.20	Visible	Vert				
0.22			Verdâtre			
0.28	Visible	Marron		Vert		
0.35	Visible	Marron		Vert		
0.40	Visible					
0.58						Marron
0.61			violet			
0.63	Visible	Vert				
0.65		Vert		Vert		
0.85		Bleu				
Macéré éthanolique de <i>Prosopis africana</i>						
0.16	Visible	Bleu				
0.20		Vert				
0.22	Visible					
0.25	Visible	Marron	Verdâtre	Vert		
0.27	Visible	Marron				
0.31	Visible	Marron		Vert		
0.36	Visible	Marron			Gris	
0.38	Visible	Marron		Vert		
0.58						Marron
0.62			Violet			
0.65			Vert			
0.67		Vert		Vert		

Nous notons ici la présence d'alcaloïdes au Rf 0.58 dans les deux extraits aqueux. Le réactif de Godin semble confirmer la présence de stérols et triterpènes. Dans les extraits aqueux la présence de tanins n'a pas été confirmée par la CCM par contre l'extrait éthanolique à Rf 0.36 présente une tache grise avec le réactifs des tanins. Nous notons la présence d'alcaloïdes dans les 3 extraits à Rf 0.58.

Tableau n°22: Résultats de la chromatographie sur couche mince des recettes à 10% et à 20% de *Prosopis africana* + *Tamarindus indica* dans le BAW : Butanol-Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃	Dragendorff	
Recette à 10%							
0.16	Visible	Bleu	Verdâtre	Vert			
0.22	Visible						
0.23	Visible	Marron					
0.25	Visible	Marron		Vert			
0.30	Visible	Marron					
0.33	Visible			Vert			
0.36	Visible	Marron					
0.58						Marron	
0.61		Violet					
0.63		Vert		Vert			
0.65		Vert					
Recette 20%							
0.13	Visible		Verdâtre	Vert			
0.16	Visible	Bleu					
0.20		Vert					
0.22	Visible						
0.23	Visible	Marron					Vert
0.26	Visible	Marron					
0.30	Visible	Marron	Vert	Vert			
0.36	Visible	Marron					
0.38	Visible				Gris	Marron	
0.58							
0.61			Violet				
0.62		Vert					
0.66		Vert		Vert			

La tache à Rf 0,58 réagit au réactif de Dragendorff spécifique des alcaloïdes qui se retrouvent dans les recettes. Nous notons également la présence de tanins au Rf 0.38 et celle de triterpènes au Rf 0.61. Prédominance de fluorescence verte avec le AlCl₃ probablement groupe des flavonoïdes.

Tableau n° 23: Résultats de la CCM du décocté et du macéré à l'eau de *Stylosanthes erecta* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm
<i>Décocté à l'eau de Stylosanthes erecta</i>		
0.05	Visible	Marron
0.11	Visible	
0.21	Visible	
0.25		Bleu vif
0.31		Bleu vif
0.36	Visible	
0.40		Vert vif
0.43	Visible	bleu
0.48		Violet
0.52	visible	Bleu
0.60	visible	
0.67		Vert
0.71	visible	
0.82		Bleu vif
0.88		Marron
0.93		Bleu
0.95	visible	
0.96		Orange
0.98		Rouge
<i>Macéré à l'eau de Stylosanthes erecta</i>		
0.05	Visible	Marron
0.11	Visible	
0.20	Visible	
0.26	Visible	Bleu vif
0.36	Visible	Vert
0.40		Bleu
0.43		Violet
0.46		
0.47		Bleu
0.52	Visible	Vert
0.57	Visible	
0.68	Visible	Bleu
0.77	Visible	
0.82		Vert
0.88		Bleu
0.96	Visible	Marron
0.98		Rouge

La richesse des deux extraits est comparable. Nous avons une prédominance de fluorescence bleue ou bleu vive : probablement une confirmation de la présence des coumarines dans la plante. Les autres fluorescences confirmeraient la présence de flavonoïdes.

Tableau n° 24: Résultats de la chromatographie sur couche mince du macéré éthanolique de *Stylosanthes erecta* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
0.07		Marron			
0.13	Visible				
0.27		Bleu vif			
0.31					Gris
0.35		Verdâtre	Gris		
0.36	Visible				
0.41		Verdâtre		Vert	
0.42	Visible		Violet		Gris
0.46		Vert			
0.47				bleu	
0.52	Visible	Marron			
0.55	Visible	Marron	Rose		
0.61	Visible	Marron			
0.68		Bleu			
0.73	Visible				
0.76		Vert			
0.96		Orange			
0.97	Visible				
0.99		Rouge			

Les fluorescences confirmeraient la présence de flavonoïdes, la coloration grise celle de tanins aux Rf 0.31 et 0.42, des triterpènes à Rf 0.42.

Tableau n° 25: Résultats de la chromatographie sur couche mince de la recette à 10% et 20% de *Stylosanthes erecta* + *Tamarindus indica* dans le BAW : Butanol-Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃
Recette à 10%				
0.06	Visible	Marron		
0.20	Visible			
0.26		Bleu vif		
0.27	Visible			Vert
0.31		Bleu vif		
0.36	Visible	Vert	Gris	
0.40		Bleu		
0.43	Visible	Violet		
0.47		Bleu		Bleu
0.52	Visible	Vert		
0.61	Visible	Marron		
0.68		Bleu		
0.73	Visible			
0.82		Vert		
0.88				
0.96	Visible	Orange		
0.98		Rouge		
Recette à 20%				
0.05		Marron		
0.06	Visible			
0.25		Bleu vif		Vert
0.32		Bleu vif		
0.35	Visible			
0.36		Vert		
0.40		Bleu		
0.42		Violet		
0.46		Bleu		Bleu
0.52	Visible	Vert		
0.61	Visible	Vert		
0.68		Bleu		
0.73	Visible			
0.82		Vert		
0.90		Bleu		
0.96	Visible	Orange		
0.98		Rouge		

Tableau n° 26.: Résultats de la chromatographie sur couche mince de la recette à 10% et 20% de *Stylosanthes erecta* + *Hibiscus sabdariffa* dans le BAW : Butanol-Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	AlCl ₃
Recette à 10%			
0.05		Marron	
0.06	Visible		
0.11	Visible		
0.27		Bleu vif	Vert
0.36	Visible	Bleu	
0.40		Bleu	
0.43	Visible	Violet	
0.47		Vert	Bleu
0.52	Visible	Vert	
0.57		Vert	
0.61	Visible	Marron	
0.68		Bleu	Vert
0.72	Visible		
0.83		Vert	
0.90		bleu	
0.97	Visible	Marron	Bleu
Recette à 20%			
0.06	Visible	Marron	
0.11	Visible		
0.23	Visible		
0.27		Bleu vif	
0.36	Visible	Bleu	
0.41		Bleu	
0.45	Visible	Violet	
0.48		Vert	
0.55	Visible	Vert	
0.58		Vert	
0.62	Visible	Marron	
0.71		bleu	
0.73	Visible		
0.85		Vert	
0.90			
0.97	Visible		

Dans l'ensemble nous retrouvons les mêmes constituants de la plantes dans les deux recettes. Seul la présence des tanins n'est pas confirmée. Le profil chromatographique des deux recettes SET et SEH sont assez semblables. La coloration bleue dans la recette SEH est certainement due aux anthocyanosides.

Tableau n° 27: Résultats de la chromatographie sur couche mince du décocté, du macéré à l'eau et du macéré éthanolique d'*Hibiscus sabdariffa* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃	FeCl ₃
Décocté					
0.08	Visible	Bleu			
0.12	Visible				
0.16	Visible				
0.26	Visible	Bleu		Bleu	
0.30	Visible	Violet		Vert	Gris
0.37		Bleu	Gris		
0,38	Visible	Bleu			
0,45	Visible	Vert			
0.53		Bleu			
0.56		Vert			
0.62	Visible	Vert			
0.66		Vert			
Macéré à l'eau					
0.10	Visible	Bleu			
0.17	Visible				
0.26	Visible	Bleu		Bleu	
0.30	Visible	Violet		Vert	Gris
0.31	Visible	Violet			
0.37	Visible	Bleu	Gris		
0.45	Visible	Vert			
0.56		Vert			
0.62		Vert			
0.66		Vert			
Macéré à l'éthanol					
0.10	Visible				
0.20	Visible				
0.25	Visible	Bleu		Bleu	
0.28	Visible	Bleu			Gris
0.30	Visible	Violet		Vert	Gris
0.37	Visible	Bleu	Gris		
0.40	Visible	Bleu			
0.43	Visible	Vert			
0.47	Visible	Bleu			
0.57		Vert			

Le même constituant à Rf 0.30 présent dans les trois extraits, possède le même comportement chromatographique. Nous notons ne prédominance de fluorescence bleue et verte à l'UV 366 nm et après révélation avec le chlorure d'aluminium.

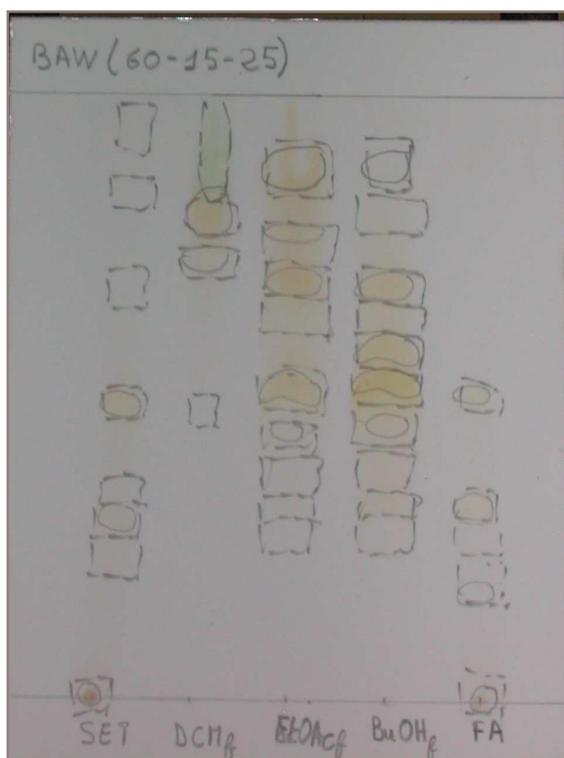
Tableau n° 28: Résultats de la chromatographie sur couche mince du décocté, du macéré à l'eau et du macéré éthanolique de *Tamarindus indica* dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin	AlCl ₃
Décocté à l'eau				
0.10	Visible			
0.13	Visible			
0.26		Jaune		
0.27	Visible	Vert		
0.30	Visible			
0.33		Vert		
0.37			Gris	
0.40		Bleu		Bleu
0.47		Jaune		
0.57		Vert		
0.60		Vert		
Macéré à l'eau				
0.10	Visible			
0.13	Visible			
0.27	Visible	Vert		
0.30	Visible			
0.33		Vert		
0.37			Gris	
0.53		Jaune		
0.60		Vert		
0.70		Vert		
Macéré éthanolique				
0.11	Visible			
0.13	Visible			
0.28		Vert		
0.31	Visible			
0.35	Visible	Vert		
0.37			Gris	
0.57		Vert		
0.58		Jaune		
0.60		Vert		

Nous notons une prédominance de fluorescences vertes et jaunes à l'UV 366 nm. Le constituant à Rf: 0,37 se colore en gris avec le réactif de Godin.

Les résultats de la CCM des extraits et fractions des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* sont reportés respectivement aux **chromatogrammes** (n°3 à n°6) qui correspondent aux **tableaux** (n° 29 à n° 34). Chaque tableau comprend les informations sur le facteur de rétention (Rf), l'observation à la lumière UV (à 254 nm, et la fluorescence 366 nm) et les différentes colorations après révélation avec les réactifs de Godin.

Chromatogramme n° 3 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux et des fractions de la recette SET 20%.



A**B**

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : 4 µl

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

Révélateur : A : au visible ; B : à UV 366 nm

Tableau n° 29: Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions de la recette SET 20% dans le BAW : Butanol- Acide acétique - Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin
Acétate d'éthyle			
0.35		Bleu	
0.51	Visible	Marron	Jaune
0.66		Vert clair	
0.71	Visible	Bleu	
0.80	Visible	Bleu	
0.88	Visible	Bleu	Gris
Butanol			
0.30		Vert	
0.35	Visible	Bleu	
0.51	Visible	Marron	Jaune
0.56		Vert	
0.65	Visible	Vert	
0.68		Vert	
0.88	Visible		
0.90		Bleu	
Eau			
0.27	Visible	Vert	
0.46	Visible	Marron	
0.56		Bleu	
0.90	Visible	Rose	

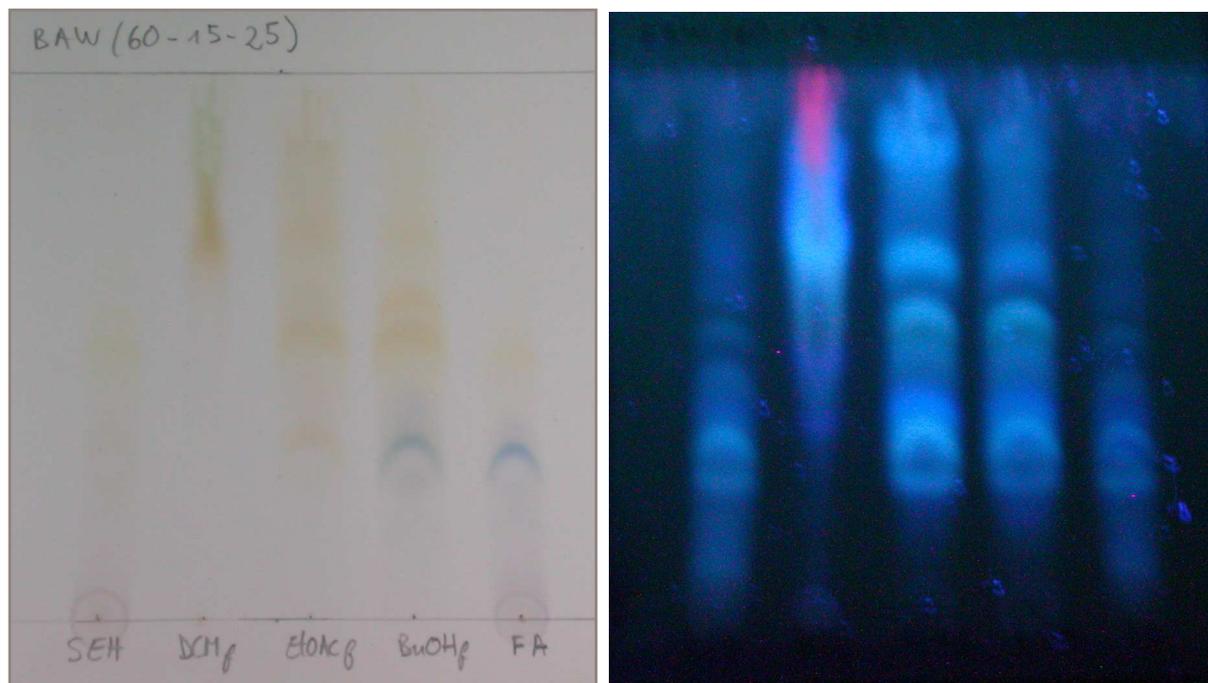
Les différentes fluorescences à l'UV 366 nm et la coloration jaune après révélation avec le réactif de Godin, nous oriente vers la présence de flavonoïdes dans les fractions acétate d'éthyle et du Butanol.

Tableau n° 30: Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de la recette SET 20% dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin
Méthanol			
0.28	Visible		Bleu sombre
0.43			
0.50	Visible	Marron	
0.56	Visible	Bleu	
0.68	Visible	Bleu	
0.88	Visible		
0.92		Rouge	
Digesté			
0.15	Visible		
0.21			
0.28	Visible	Vert	
0.48	Visible	Marron	
0.58		Bleu	
Décocté			
0.26	Visible	Vert	
0.32			
0.50	Visible	Marron	
0.57		Bleu	
0.90	Visible	Bleu	

L'extrait méthanolique est plus riche en constituants que les extraits aqueux.

Chromatogramme n° 4 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux et des fractions de la recette SEH 20%.



A

B

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : 4 μ l

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

Révéléateur : A : au visible ; B : à UV 366 nm

Tableau n° 31: Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions de la recette SEH 20% dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin
Acétate d'éthyle			
0.28	Visible	Bleu	Jaune
0.31		Vert	
0.36	Visible	Bleu	
0.53		Marron	
0.65		Vert clair	
0.70		Bleu	
0.80		Bleu	
0.90		Bleu	
Butanol			
0.23	Visible	Vert	Jaune
0.27	Visible	Vert	
0.31	Visible	Vert	
0.36		Bleu	
0.52		Marron	
0.57		Bleu	
0.65	Visible	Vert clair	
0.71		Bleu	
0.90		Bleu	
Eau			
0.11	Visible	Vert Bleu Marron Bleu Rose	
0.16	Visible		
0.27	Visible		
0.32	Visible		
0.48	Visible		
0.60	Visible		
0.90			

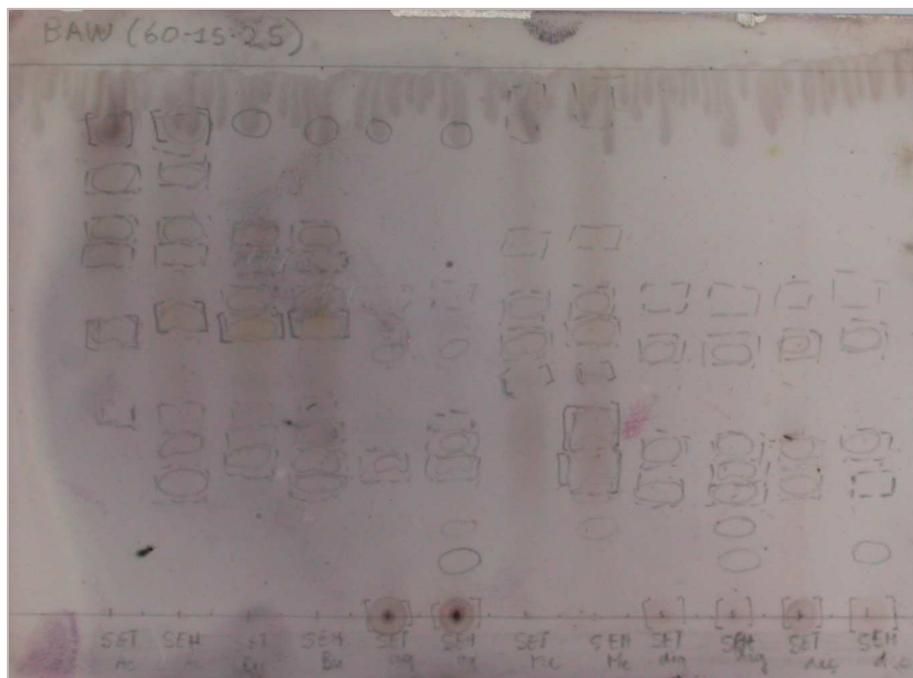
La fraction butanolique est plus riche en constituants, possible présence de flavonoïdes pour les fractions acétate d'éthyle et butanolique presque au même Rf 0,52-053.

Tableau n° 32: Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de la recette SEH 20% dans le BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin
Méthanol			
0.16	Visible		
0.27	Visible	Bleu	Rose
0.35	Visible	Bleu	Rose
0.43	Visible		Bleu
0.50	Visible	Marron	
0.56	Visible	Bleu	
0.70	Visible	Bleu	
0.86	Visible		
0.90		Rougeâtre	
Digesté			
0.11	Visible		
0.17	Visible		
0.26	Visible	Bleu	
0.31	Visible	Vert	
0.48	Visible	Marron	
0.57		Bleu	
Décocté épuisé			
0.06	Visible		
0.26		Vert	
0.28	Visible		
0.33	Visible	Vert	
0.52	Visible	Marron	
0.58		Bleu	
0.86		Bleu	

L'extrait méthanolique est plus riche en constituants que les extraits aqueux. Tous les extraits présentent des taches visibles à 254 nm et des fluorescences à 366 nm.

Chromatogramme n° 5 : Résultats de la CCM de l'extrait aqueux et des fractions des recettes SET et SEH 20%.



Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : 4 µl

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

Révéléateur : Réactif de Godin

Tableau n° 33 : Résultats de la CCM des extraits et fractions DCM de la recette SET 20% dans Ligroïne: Acétate d'éthyle (20:10)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin
Macéré DCM			
0.01		Rouge	
0.07	Visible		
0.16	Visible	Rouge	
0.20		Rouge	
0.25	Visible	Rouge	
0.30	Visible	Rouge	
0.36	Visible	Rouge	
0.42	Visible	Rouge	Vert
0.48	Visible	Rouge	Violet
0.58	Visible	Rouge	Vert
0.62	Visible		
0.66	Visible	Vert clair	
0.68			Violet
0.71	Visible		
0.90		Rouge	
0.96		Violet	Violet
Fraction DCM			
0.03	Visible	Rose	
0.07	Visible	Bleu	
0.08	Visible		
0.10		Violet	Rose
0.15		Bleu	
0.21	Visible		
0.26	Visible		
0.35	Visible		
0.42		Rouge	
0.45		Rouge	
0.57		Rouge	Violet

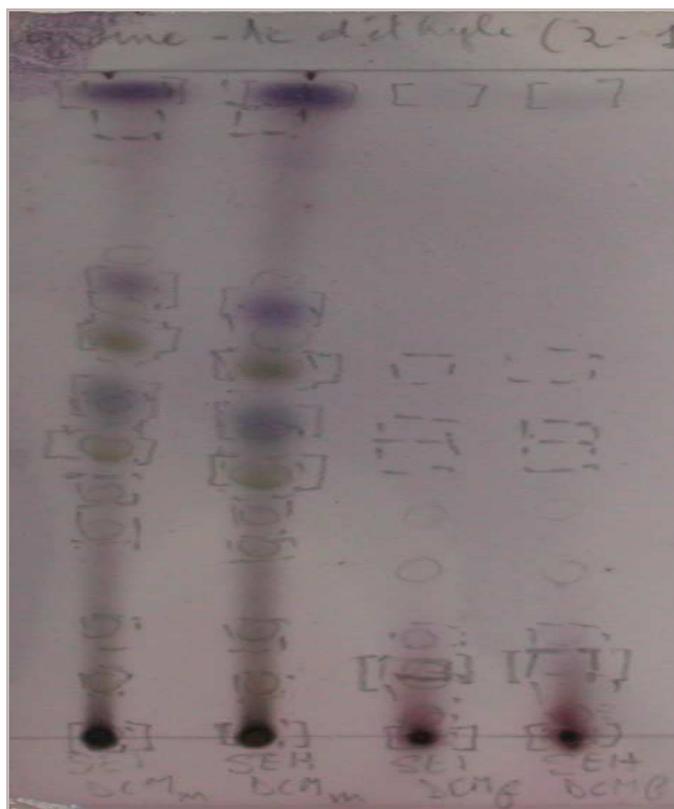
L'extrait DCM est plus riche que la fraction DCM obtenue à partir de l'extrait aqueux de la recette. Nous notons une prédominance de fluorescence rouge à 366 nm. La coloration violette au Godin oriente vers la présence de terpénoïdes (**Chromatogramme n° 6**).

Tableau n° 34 : Résultats de la CCM des extraits et fractions DCM de la recette SEH 20% dans Ligroïne: Acétate d'éthyle (20:10)

Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	Godin
Macéré DCM			
0.05		Rouge	
0.08	Visible		
0.16	Visible	Rouge	
0.20		Rouge	
0.23	Visible	Rouge	
0.28	Visible	Rouge	
0.33	Visible	Rouge	
0.40	Visible	Rouge	Vert
0.46	Visible	Rouge	Violet
0.56	Visible	Rouge	Vert
0.60	Visible		
0.63	Visible	Vert clair	Violet
0.70	Visible		
0.90		Rouge	
0.96		Violet	Violet
Fraction DCM			
0.03	Visible	Rose	
0.06	Visible		
0.07		Bleu	
0.10		Violet	Rose
0.15		Bleu	
0.20	Visible		
0.25	Visible		
0.33	Visible		
0.41		Rouge	
0.45		Rouge	
0.56		Rouge	Violet

L'extrait DCM est plus riche que la fraction DCM obtenue à partir de l'extrait aqueux de la recette. La coloration verte obtenue avec le réactif de Godin oriente vers la présence des stérols (**Chromatogramme n° 6**).

Chromatogramme n° 6 : Résultats de la CCM des extraits et fractions DCM des recettes SET et SEH 20%.



Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : 4 µl

Eluant : Ligroïne: Acétate d'éthyle (2:1)

Révéléteur : Réactif de Godin

5-2-4 Activités biologiques

5-2-4-1 Les tests biologiques *in vitro*

5-2-4-1-1 Activité antibactérienne.

Etude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux des 5 recettes

Tableau n° 35: Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux lyophilisés des 5 recettes à 20% sur des souches cliniques de *Escherichia Coli* et *Klebsiella pneumoniae*

Recettes	Doses	<i>Escherichia coli</i> 1	<i>Klebsiella.pneumoniae</i>
		Souche clinique	Souche clinique
Diamètres d'inhibition en mm			
CST	100µg	0	8
	300µg	7	0
PTT	100µg	0	7
	300µg	7	8
PAT	100µg	0	10
	300µg	7	...
SEH	100µg	...	6.5
	300µg	7	10
SET	100µg	7	9
	300µg	8
Ampicilline	10µg	0R	
Tobramicine	10µg	20S	

C'est sur la base de ces résultats que nous avons choisi de retenir les recettes à base de *Stylosanthes erecta*.

En outre, nous avons déterminé l'activité antibactérienne de la fraction alcaloïdique de la recette à base de *Prosopis africana* (PAT 20%).

Prosopis africana est la seule plante qui a donné une réaction positive au réactif de Dragendorff.

5-2-4-2-1-2 Activité antibactérienne des extraits et fractions des 2 recettes.

Pour les recettes à base de *Stylosanthes erecta*, nous avons évalué l'activité antibactérienne des différentes fractions organiques de l'extrait aqueux et aussi des extraits organiques obtenus avec les solvants organiques.

Tableau n°36: Résultats de l'activité antibactérienne de la recette à base de *Stylosanthes erecta* + *Hibiscus sabdariffa* 20% (SEH 20%)

Fractions/ Extraits	Doses en µg	E. c /TTCC (SS)	E. c 1 (S C)	E. c 2 (SC)	S a/CDC (SS)	S. a (SC)	Kleb.p (SC)	Ps (SC)
		Diamètres d'inhibition en mm						
Extraits aqueux								
	100		---	---			6.5	---
	300		9	---			10	---
	400	7	---	9			10	---
Fractions								
DCM	300	---	10	---	8	---	---	---
DCM	400	9	---	---	7	10	---	---
AcEt	300	---	9	8	---	---	---	---
AcEt	400	9	10	13	8	11	---	---
BuOH	300	---	12	12	---	---	---	---
BuOH	400	---	8	10	---	---	8	---
FA	300	8	12	---	---	8	9	9
FA	400	---	11	12	---	---	---	---
Extraits								
DCM	300	9	9	9	---	---	9	---
DCM	400	7	9	9	8	---	---	9
MeOH	300	7	10	11	---	7	9	---
MeOH	400	8	8	14	9	---	---	---
DIS	300	9	11	8	---	---	11	9
DIS	400	---	11	9	10	8	---	---
DEC	300	9	9	10	---	7	---	---
DEC	400	7	11	10	9	9	---	---
Témoins								
Ampi	10		0R	0R			0R	0R
Ciprofl.	5		30S	23S			28S	35S
Ac Nalid	30			20S				9R
Ceftriax	30		28S	25S			24S	20I

E. c: *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; Kleb:p *Klesiella.pneumoneae*;
 Ps: *Pseudomonas*; SC: Souche clinique. SS: Souche standard. Ampic: Ampicilline; Ciprofl.: Ciprofloxacine; Ac Nalid: Acide nalidixique; Ceftriax: Ceftriaxone.

Les lyophilisats ne font pas bien ressortir l'activité sur *E. coli*. Toutes les fractions possèdent une activité sur *E. coli*. Les zones d'inhibition les plus élevées sont celles de la fraction Acétate d'éthyle à 4µl et l'extrait méthanolique à 4µl.

Tableau n° 37 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits et fractions de la recette à base de *Stylosanthes erecta*+*Tamarindus indica* 20% SET 20%.

Fractions/ Extraits	Doses en µg	E. c /TTCC (SS)	E. c 1 (SC)	E. c 2 (SC)	S a/CDC (SS)	S. a (SC)	Kleb.p (SC)	Ps (SC)
Diamètres d'inhibition en mm								
Extraits aqueux								
	100	---	7	---			9	---
	300	---	8	---			---	---
	400	7	---	8			---	---
Fractions								
DCM	300	9	12	---	8	---	---	---
DCM	400	10	9	12	---	---	---	---
AcEt	300	7	9	8	9	---	---	---
AcEt	400	9	8	8	---	7	---	---
BuOH	300	---	10	8	---	---	---	---
BuOH	400	8	9	8	---	---	---	---
FA	300	7	9	8	---	---	9	---
FA	400	---	9	12	---	11	---	---
Extraits								
DCM	300	9	10	10	---	---	9	10
DCM	400	9	11	9	---	---	---	---
MeOH	300	9	8	---	---	---	9	---
MeOH	400	10	8	12	---	7	---	---
DIS	300	---	10	10	---	---	11	---
DIS	400	7	10	8	---	---	---	---
DEC	300	7	9	11	---	---	---	---
DEC	400	9	9	12	---	---	---	9
Témoins								
Ampi	10		0R	0R			0R	0R
Ciprofl.	5		30S	23S			28S	35S
Ac Nalid	30			20S				9R
Ceftriax	30		28S	25S			24S	20I

Les lyophilisats montrent une activité sur *E. coli* déjà avec 1µl d'extrait. Tous les extraits et fractions possèdent une activité sur *E. coli*. L'activité sur *Staphylococcus aureus* est moins intéressante

Tableau n° 38: Résultats de l'activité antibactérienne de la fraction alcaloïde de la recette à base *Prosopis africana*+ *Tamarindus indica* 20% PAT 20%.

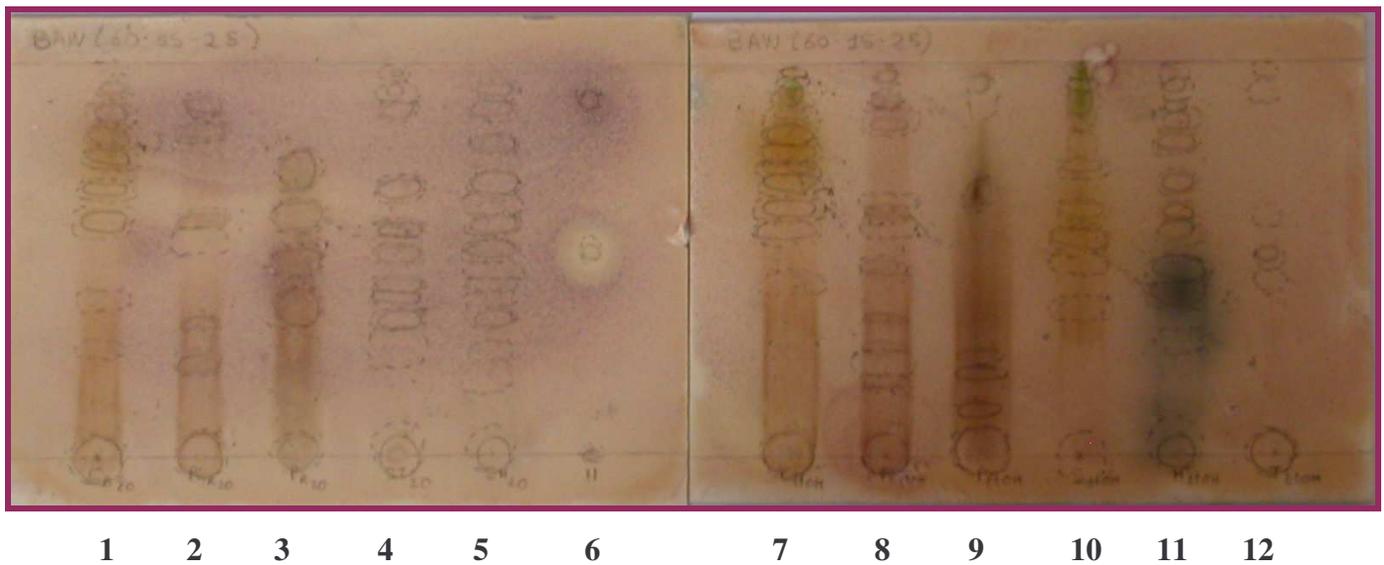
Fractions/ Extraits	Doses en µg	E. c /TTCC (SS)	E. c 1 (S C)	E. c 2 (SC)	S a/CDC (SS)	S. a (SC)	Kleb.p (SC)	Ps (SC)
		Diamètres d'inhibition en mm						
Extraits aqueux								
	100		12	---			10	---
	300	---	9	---	---	---	---	---
	400	---	---	8	---	---	---	---
Fractions alcaloïdes								
	300	---	12	9	7	---	---	
	400	---	8	12	---	8	---	
Témoins								
Ampi	10µg		0R	0R			0R	0R
Ciprofl.	5µg		30S	23S			28S	35S
Ac Nalid	30µg			20S				9R
Ceftriax	30µg		28S	25S			24S	20I

La fraction alcaloïdique montre une activité sur *E.coli*, mais aucune activité sur *Klebsiella pneumoniae*.

5-2-4-1-2 Activité antifongique : Méthode bioautographique “Agar overlay”

Dans nos conditions expérimentales les extraits éthanoliques des plantes et des recettes à 20% à la dose de 60 mg/ml ne présentent pas d'activité sur les souches cliniques de *Candida albicans* isolées à partir de prélèvements vaginaux. La validité de la procédure a été confirmée par l'effet antifongique de la Nystatine à la dose de 0,5 µg utilisée comme témoin.

Chromatogramme n° 7 : Activité antifongique des extraits éthanoliques des plantes et des recettes à 20%



Da 1 à 5 : extraits des recettes à 20% ; 6 : Nystatine ; de 7 à 12 extraits des plantes.

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : Extraits 60 µl ; Nystatine 5 µl

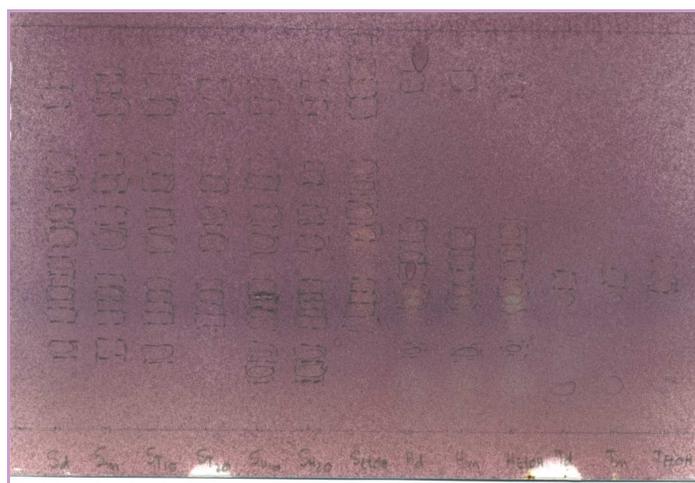
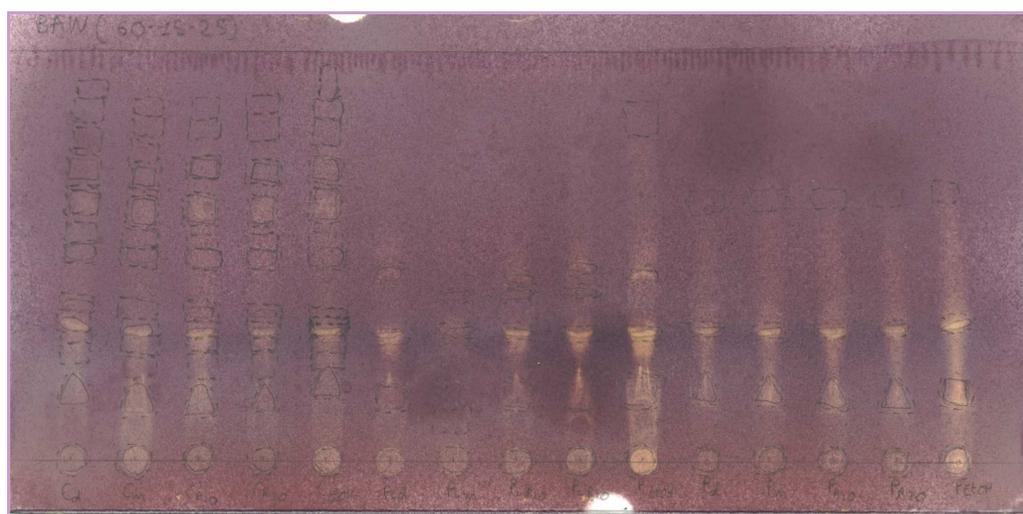
Eluant : BAW : Butanol- Acide acétique- Eau (60-15-25)

Révéléateur : Colonie de *Candida albicans* en Agar

5-2-4-1-1-2 Activité antioxydante

Les chromatogrammes obtenus avec tous les extraits (décocté, macéré, et macéré à l'éthanol) des 5 recettes et des plantes qui les composent, les fractions organiques des extraits aqueux des deux recettes et les extraits organiques à partir des deux recettes, ont été révélés avec une solution de DPPH pour évaluer l'activité antiradicalaire (Tableaux n° 39 à n° 41).

Chromatogramme n° 8 et 9 : Activité anti DPPH des extraits des recettes et des plantes.



Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : 4 µl

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

Révélateur : DPPH

Tableau n° 39: Résultats de l'activité antiradicalaire des extraits des plantes et recettes

Plantes	Extraits	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	DPPH
<i>Cassia sieberiana</i>	Décocté eau	0.32	Visible	Marron clair	Jaune
		0.62	Visible	Vert	Jaune
	Macéré eau	0.31	Visible	Marron	Jaune
		0.58	Visible	Vert	Jaune
	Macéré EtOH 80°C	0.31	Visible	Marron	Jaune
		0.62	Visible	Vert	Jaune
	Recette 10%	0.32	Visible	Marron	Jaune
		0.61	Visible	Vert	Jaune
	Recette 20%	0.32	Visible	Marron	Jaune
0.61	Visible	Vert	Jaune		
<i>Piliostigma thonningii</i>	Décocté eau	0.16	Visible	Vert	Jaune
		0.31	Visible	Bleu	Jaune
		0.46	Visible	Bleu	Jaune
	Macéré eau	0.31	Visible	Bleu	Jaune
		0.21	Visible	Bleu	Jaune
	Macéré EtOH 80°C	0.32	Visible	Marron	Jaune
		0.16	Visible	Vert	Jaune
	Recette 10%	0.31	Visible	Bleu	Jaune
		0.43	Visible	Bleu	Jaune
	Recette 20%	0.17	Visible	Vert	Jaune
		0.31	Visible	Bleu	Jaune
0.46		Visible	Bleu	Jaune	
<i>Prosopis africana</i>	Décocté eau	0.17	Visible	Bleu	Jaune
		0.31	Visible	Marron	Jaune
	Macéré eau	0.17	Visible	Bleu	Jaune
		0.31	Visible	Marron	Jaune
	Macéré EtOH 80°C	0.21	Visible	Bleu	Jaune
		0.32	Visible	Marron	Jaune
	Recette 20%	0.18	Visible	Bleu	Jaune
		0.32	Visible	Marron	Jaune
	0.20	Visible	Bleu	Jaune	
0.32	Visible	Marron	Jaune		
<i>Stylosanthes e</i>	Macéré EtOH 80°C	0.55	Visible	Marron	Jaune
<i>Hibiscus</i>	Décocté eau	0.25			Jaune
	Macéré eau	0.25			Jaune
	Macéré EtOH 80°C	0.25			Jaune

Pour *Stylosanthes erecta*, seul le macéré éthanolique montre une activité antioxydante au Rf 0.55. *Tamarindus indica* n'a pas montré d'activité. Les autres extraits et recettes ont manifesté l'activité sauf la recette à 10% de *Prosopis africana*. Les autres constituants actifs de la recette *Stylosanthes erecta* ne migrent pas dans ce système de solvant.

Tableau n°40: Résultats de l'activité antioxydante des fractions de l'extrait aqueux de la recette SET 20% et les extraits organiques avec les solvants à polarité croissante dans le BAW: Butanol-Acide acétique-Eau (60-15-25)

Extraits/ Fractions	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	DPPH
Fractions				
Acétate d'éthyle	0.51	Visible	Marron	Jaune
	0.88	Visible	Bleu	Jaune
Butanol	0.51	Visible	Marron	Jaune
Extraits				
Méthanol	0.50	Visible	Marron	Jaune
	0.92		Rouge	Jaune
Digesté	0.48	Visible	Marron	Jaune
	0.58		Bleu	
Décocté	0.50	Visible	Marron	Jaune
	0.90	Visible	Bleu	Jaune

La fraction aqueuse n'a pas montré d'activité.

Tableau n°41: Résultats de l'activité antioxydante des fractions de l'extrait aqueux et des extraits organiques avec les solvants à polarité croissante de la recette de SEH 20%

Extraits/ Fractions	Rf	UV 254 nm	UV 366 nm	DPPH
Fractions				
Acétate d'éthyle	0.31		Vert	Jaune
	0.53	Visible	Marron	Jaune
Butanol	0.52	Visible	Marron	Jaune
Extraits				
Méthanol	0.27	Visible	Bleu	Jaune
	0.35	Visible	Bleu	Jaune
	0.50	Visible	Marron	Jaune
	0.56	Visible	Bleu	Jaune
	0.90		Rougeâtre	Jaune
Digesté	0.48	Visible	Marron	Jaune
Décocté épuisé	0.52	Visible	Marron	Jaune
	0.86		Bleu	Jaune

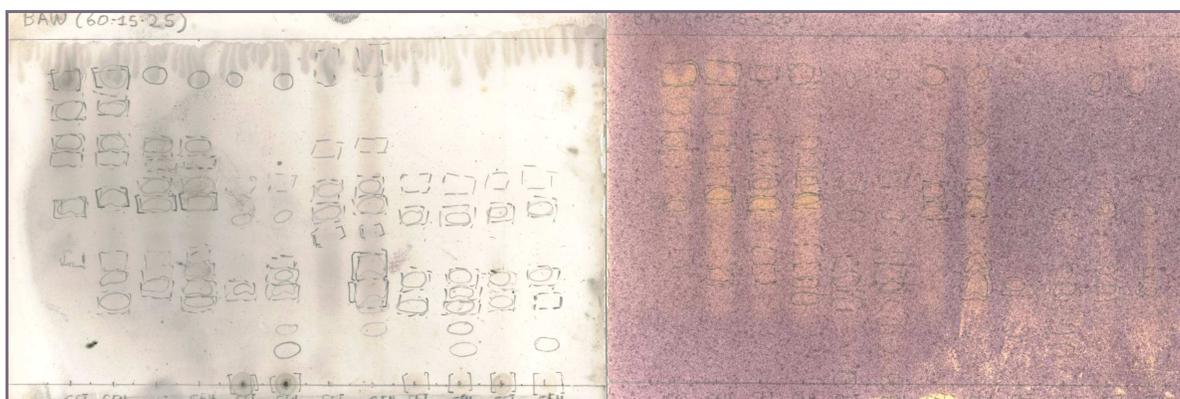
La fraction aqueuse n'a pas montré une activité. L'extrait méthanolique possède beaucoup de substances antioxydantes.

Activité antiradicalaire des fractions et des extraits DCM des deux recettes :

Pour les extraits et les fractions DCM des recettes SET et de SEH à 20%, seule la tache à Rf 0,07 de la fraction DCM dans le système Ligroïne Acétate d'éthyle: (1-1) présente une l'activité antiradicalaire. Les autres constituants qui décolorent le DPPH, restent au point de dépôt. Les macérés DCM n'ont pas montré une activité antioxydante.

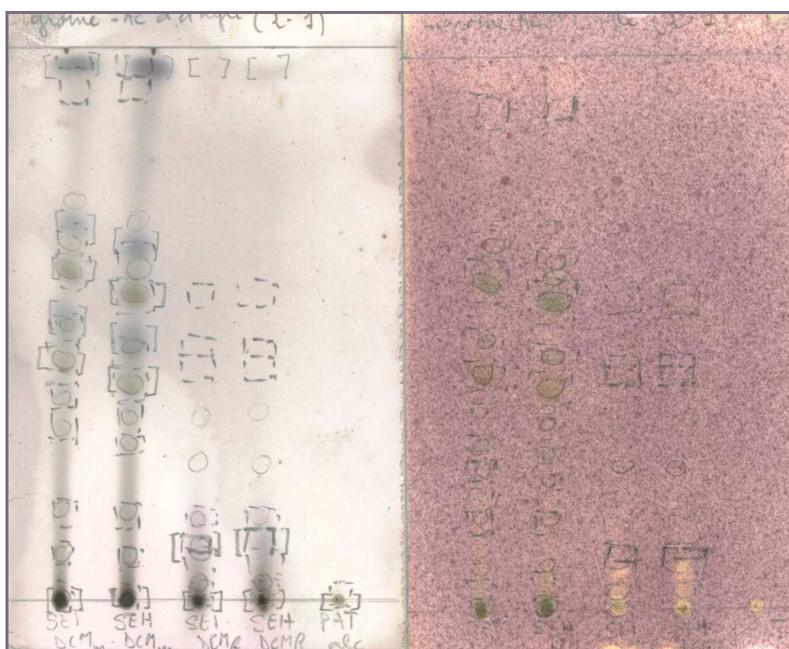
Les chromatogrammes n°10 et 11 montrent la relation entre les constituants chimiques révélés au réactif de Godin (10 et 11A) et l'activité anti radicalaires révélée au DPPH (10 et 11B).

Chromatogramme 10 et 11 : Activité anti DPPH des extraits aqueux et organiques et des fractions organiques des lyophilisats des recettes SET et SEH 20%.



10A

10B



11A

11B

Front du solvant : 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F₂₆₄

Dépôt : 4 µl

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

Ligroïne Acétate d'éthyle: (1-1)

Révéléteur : A : Réactif de Godin ; B : DPPH

5-2-4-2-1-3 Activité hémostatique des deux recettes

Les extraits aqueux des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* ne diminuent pas le temps de coagulation du sang total en tube.

5-2-4-2-1-3 Constituants à propriétés hémolytiques

Les chromatogrammes obtenus avec les extraits et fractions organiques des extraits aqueux des deux recettes et leurs extraits organiques, révélés avec du sang de bœuf prélevé sur le citrate du sodium, ne présentent pas de constituants qui provoquent l'hémolyse.

5-2-4-2-2 Les tests biologiques *in vivo*

5-2-4-2-2-1 Activité antalgique

Activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante «Hot plate»

Dans nos conditions expérimentales, les extraits aqueux des deux recettes à la dose de 1000mg/kg, ne présentent pas d'activité antalgique centrale selon la méthode de la plaque chauffante. La validité de la méthode a été confirmée par l'effet analgésique centrale du médicament de référence le chlorhydrate de tramadol, qui protège les animaux vis à vis de la chaleur.

Activité antalgique par la méthode de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique «Writhing test»

Tableau n° 42: Résultats de l'activité antalgique des deux recettes *Stylosanthes erecta* + *Hibiscus sabdariffa* (SEH 20%) et *Stylosanthes erecta* + *Tamarindus indica* (SET 20%) test par le Writhing test

Traitement	Doses ml-mg/kg	Nombre de torsions M±DS	% Protection
Eau distillée	25	56.66±22.01	---
SET 20%	500	43.33±17.07	23.53
SET 20%	1000	36.66±6.43*	35.29
SEH 20%	500	33.16±10.04*	31.85
SEH 20%	1000	28.66±5.42*	49.41
Paracétamol	100	35.16±9.96*	37.94
Indométacine	25	33.66±3.50*	40.59

Les recettes ont donné des résultats significatifs, avec un effet protecteur vis à vis de la douleur chimique, sauf à la dose de 500 mg/kg pour la recette SET 20%. La recette SEH 20% a donné un résultat plus significatif que l'Indométacine et le Paracétamol, testés respectivement à la dose de 25mg/kg et de 100mg/kg. L'effet analgésique des extraits est dose dépendante.

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Les résultats des enquêtes ethnobotaniques déjà effectués au Mali nous ont permis de sélectionner 5 recettes traditionnelles issues de 6 plantes utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite.

Pour chaque recette, l'extraction a été effectuée selon les indications de la médecine traditionnelle (décocté ou macéré). Nous avons préparé aussi des extraits avec l'éthanol à 80° afin d'obtenir un maximum de constituants et dans un souci d'amélioration.

La majorité des extraits obtenus présente un aspect en paillettes plus ou moins brillantes. Les extraits de *Tamarindus indica*, les fractions et extraits organiques obtenus à partir des deux recettes de *Stylosanthes* sont collants. En général, la couleur des extraits rappelle celle des drogues de départ. Par contre, la coloration rouge cerise a pris le dessus pour toutes les recettes contenant *Hibiscus sabdariffa*. En général, nous avons obtenu de bons rendements avec toutes les recettes. Les recettes contenant *Hibiscus sabdariffa* ont donné les rendements les plus élevés.

Nos études phytochimiques ont permis de mettre en évidence la richesse des plantes et des recettes en tanins, oses et holosides, mucilages, stérols et triterpènes, hétérosides cardiotoniques. Elles contiennent surtout des tanins catéchiques. Seules *Piliostigma thonningii* et *Stylosanthes erecta* ont des tanins galliques. Des alcaloïdes ont été présents seulement dans *Prosopis africana* (4%) et sa recette (2%), les deux sont aussi riches en saponosides. Des coumarines se trouvent dans *Cassia sieberiana*, *Stylosanthes erecta* et leurs recettes. Seulement *Cassia sieberiana* contient des anthraquinones. Les flavonoïdes présents dans les plantes, n'ont pas été détectés dans les recettes respectives. Les catéchols sont surtout dans *Piliostigma thonningii* et *Stylosanthes erecta*. Les mucilages sont abondants dans *Stylosanthes* et ses recettes. Les leucoanthocyanes se rencontrent chez *Cassia sieberiana*, *Piliostigma thonningii* et dans la recette de *Stylosanthes* avec *Hibiscus sabdariffa*.

Les pourcentages des substances extractibles par l'eau confirment la présence dans la drogue de principes actifs solubles dans l'eau comme les coumarines, les flavonoïdes et surtout les

tanins, etc... L'eau semble être un meilleur solvant pour extraire la majorité des constituants chimiques responsables des différentes activités aussi bien *in vitro* que *in vivo*, ce qui justifie la pertinence de la forme traditionnelle d'utilisation par les tradithérapeutes.

Dans certains cas, nous avons noté l'apparition de certains constituants dans les recettes alors qu'ils étaient absents de la plante seule.

L'observation à la lumière UV et la révélation des chromatogrammes obtenus avec les extraits et fractions des drogues avec le chlorure ferrique, le chlorure d'aluminium et le réactif de Godin, ont permis de confirmer la présence de plusieurs composés comme les tanins, les stérols et triterpènes, les saponosides, les flavonoïdes, les coumarines, les anthocyanosides, etc.

Pour l'évaluation des propriétés pharmacologiques en rapport avec l'indication thérapeutique des deux recettes en médecine traditionnelle, nous avons travaillé aussi bien sur les extraits organiques que sur les extraits aqueux.

Pour l'activité antibactérienne, des extraits des recettes à la dose de 300 et 400µg ont inhibé la croissance de souches cliniques d'*Escherichia coli*. Les deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* notamment *Stylosanthes erecta* et *Tamarin* à 20% (SET), et *Stylosanthes erecta* et *Hibiscus* à 20% (SEH), ont donné les résultats intéressants avec 100µg d'extrait aqueux lors du criblage préliminaire. Dans ces mêmes conditions, les souches d'*Escherichia coli* se sont montrées résistantes à l'Ampicilline à la dose de 10 µg.

Dans l'ensemble, les fractions organiques de l'extrait aqueux et aussi les extraits organiques obtenus directement à partir des deux recettes à base de *Stylosanthes* présentent un plus grand diamètre de zone d'inhibition contre toutes les souches d'*Escherichia coli*. Nous avons également noté une augmentation du diamètre de la zone d'inhibition avec des fractions aqueuses restantes, après le passage des solvants à polarité croissante et aussi des décoctés et digestés obtenus après l'extraction avec les solvants organiques.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les extraits et les fractions des deux recettes à la dose de 300 et 400µg/disque sont compris entre 7 mm et 14 mm comparables à ceux obtenus par d'autres auteurs sur des souches cliniques avec des extraits totaux de plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections (Sahin et coll., 2003)

L'activité antibactérienne des recettes en général et des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* pourrait s'expliquer par la présence des différents constituants, notamment les tanins et d'autres substances polyphénoliques. De nombreux travaux ont mis en évidence l'activité antibactérienne des tanins (Scalbert, 1991; Tomás-Barberan, et coll. 1990, Lutete et coll. 1994 ; Elegami, et coll. 2002). Par exemple, les C-méthyl flavonols de *Piliostigma thonningii* ont déjà montré une activité antibactérienne sur *Eschericia coli* et *Staphylococcus aureus* à la concentration de 20mg/ml (Akinpelu et Obuotor, 2000). Nous avons détecté les alcaloïdes dans les extraits de *Prosopis africana* et une étude antérieure a déjà démontré la propriété antibactérienne des alcaloïdes de *Prosopis africana* sur *Staphylococcus aureus* (Kpakote et coll., 1998).

Dans nos conditions expérimentales, les extraits éthanoliques des recettes ne possèdent pas d'activité antifongique contre les souches cliniques de *Candida albicans* (**Chromatogramme n° 7**). Nos résultats sont en accord avec ceux reportés sur *Cassia sieberiana*, *Hibiscus sabdariffa* et *Tamarindus indica* inactifs sur *Candida albicans* (Ross,1999 ; Ntsame-Obame et coll.,1991). Cependant, nos résultats ne confirmeraient pas ceux obtenus par Keita qui a trouvé une action inhibitrice de l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Stylosanthes erecta* sur des souches cliniques de *Candida albicans* à la dose de 600 µg (Keita, 2002) et par Kpakote et coll.(1998) sur *Prosopis africana* aux concentrations de 1, 3 et 4 mg/ml.

Pour l'activité anti-radicalaire, dans l'ensemble les extraits des recettes (sauf celles à base de *Stylosanthes erecta*) présentent des constituants qui décolorent la solution du radical DPPH. Après le fractionnement et l'extraction par les solvants organiques des deux recettes à base de *Stylosanthes* des taches anti-radicalaires sont plus visibles (**Chromatogrammes n°10 et 11**) : les extraits méthanoliques de SEH, suivis des fractions Acétate d'éthyle et des décoctés épuisés des deux recettes sont les plus actifs. L'activité antioxydante de ces extraits pourrait s'expliquer par leur richesse en substances polyphénoliques. De nombreuses études ont déjà montré les propriétés antioxydantes des tanins

(Ohmishi et *coll.*, 1994), des flavonoïdes, des anthocyanes et des leucoanthocyanes (Madhavi et *coll.*, 1996 ; Cavin, 1999).

La richesse de l'extrait aqueux des recettes en constituants polyphénoliques, capables de piéger les radicaux libres, empêcherait la formation des prostaglandines qui provoquent l'inflammation. L'activité anti-oxydante des extraits est donc un atout supplémentaire pour leur utilisation dans le traitement de l'inflammation en cas de cystite. La participation des dérivés de la cyclo-oxygénase produits au cours du métabolisme de l'acide arachidonique, et la production de radicaux libres, réactives à l'oxygène, sont bien établies dans l'inflammation (Smith et *coll.*, 1974). Les médicaments anti-inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet des médiateurs chimiques dont les prostaglandines. La littérature attribue aux constituants polyphénoliques comme les flavonoïdes, aux acides phénols et aux anthocyanes une activité anti-inflammatoire (Harborne et Baxter 1993, Laughton et *coll.* 1989 ; Huang et Ferraro, 1991).

Une diminution du temps de coagulation par les extraits des deux recettes pouvait être bénéfique en cas d'hémorragie associée à la cystite. Les lyophilisats des deux recettes n'ont pas provoqué une diminution du temps de coagulation du sang total. Cependant certaines substances polyphénoliques comme les anthocyanosides, les flavonoïdes, les tanins des extraits aqueux possèdent la propriété de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins, d'augmenter leur résistance et le tonus veineux et de stabiliser le collagène (Bruneton, 1993). Ces propriétés, en faveur du renforcement des vaisseaux et capillaires préviendraient l'hémorragie souvent associée à la cystite. Ceci contribuerait à l'efficacité des deux recettes. L'absence de constituant provoquant l'hémolyse est un autre atout pour l'utilisation thérapeutique des recettes.

Dans nos conditions expérimentales, les extraits aqueux des deux recettes ne présentent pas d'activité antalgique centrale selon la méthode de la plaque chauffante. Par contre selon la méthode de la torsion, la recette SET20% aux doses de 500 mg/kg et 1000 mg/kg a donné respectivement une inhibition de 23.53% et 35.29% et la recette SEH20%, une inhibition de

31.85 et 49.41% respectivement aux doses de 500 et 1000 mg de drogue sèche par kg de poids corporel. Ces résultats sont comparables à ceux des effets analgésiques périphériques du Paracétamol administré à la dose de 100 mg/kg et de l'Indométacine testé à la dose de 5 mg/kg. La recette SEH20% à la dose de 1000 mg/kg protège mieux les souris contre la douleur que les deux antalgiques standard.

Ces données nous permettent de suggérer l'extrait aqueux des deux recettes contre la douleur au niveau périphérique et non pas au niveau centrale comme les morphiniques. De nombreux constituants solubles dans l'eau et identifiés par nos études phytochimiques pourraient être responsables de cette activité (Bruneton, 1993). De nombreux travaux ont déjà mis en évidence l'activité antalgique de substances extractibles par l'eau comme les coumarines, les tanins, les flavonoïdes et des mucilages (Bossokpi, 2002 et Tolo, 2002) ont montré que des plantes riches en ces constituants présentent une activité antalgique périphérique.

Bien que largement utilisé en médecine traditionnelle, *Stylosanthes erecta* ne semble pas avoir fait l'objet d'études scientifiques en rapport avec son utilisation dans les infections urinaires et la cystite. Par contre il existe un grand nombre d'informations sur *Hibiscus* et *Tamarindus* aussi bien pour leurs constituants chimiques, leurs activités biologiques et surtout la fréquence de leur utilisation dans les infections urinaires et la cystite (Kerharo et Adam, 1974; Koné, 1980; Traoré, 1983; Malgras, 1992).

Selon des études antérieures, des extraits aqueux de *Tamarindus indica* à la dose de 300µg ont montré des propriétés antibactériennes sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Imbali et coll., 1992 ; Ali et coll., 1998). Ces propriétés antibactériennes pourraient être attribuées à la présence dans la pulpe de fruit de pectine et d'acides organiques (Paris, 1981, Bruneton, 1993). Les calices d'*Hibiscus sabdariffa* sont riches en polysaccharides hétérogènes, acides mucilagineux et pectines. Ils contiennent de nombreux composés polyphénoliques et des anthocyanosides. La drogue est caractérisée par une forte teneur en acides organiques, une lactone de l'acide hydroxycitrique (Imbali et coll., 1992 ; Bruneton, 1993). Ces constituants possèdent des propriétés spasmolytiques, diurétiques, cholagogues et anti-inflammatoires. La présence des anthocyanosides lui confère des propriétés angioprotectrices (Bruneton, 1993).

Il est certainement intéressant de noter que les activités pharmacologiques des extraits aqueux des deux recettes de *Stylosanthes* avec le Tamarin et l'*Hibiscus* pourraient être dues à une synergie entre leurs différents constituants solubles dans l'eau.

Les préparations aqueuses de calices d'*Hibiscus sabdariffa* et des fruits de *Tamarindus indica*, deux boissons beaucoup consommées au Mali, sont aujourd'hui utilisées en phytothérapie moderne, comme diurétiques et antiseptiques urinaires en cas de cystite (Graz et Falquet, 2000). En outre, au traitement antibactérien de la cystite sont généralement associées des règles hygiéno-diététiques comme boire beaucoup, prendre de la vitamine A et C ou encore des suppléments de multivitamines et minéraux, manger de l'ananas (Meyrier, 1985 ; Mori et coll., 1972) et boire de jus fruits acides. En effet, certains auteurs préconisent l'acidification des urines comme méthode préventive pour faire diminuer le nombre d'infections urinaires (Johnson, 1990). Les préparations contenant Tamarin et l'*Hibiscus* comme les deux recettes pourraient contribuer à l'acidification des voies urinaires, ce qui est recherché dans le traitement de la cystite en plus de l'antibiothérapie.

Les deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* pourraient être utiles dans le traitement des infections urinaires et la cystite comme d'autres plantes déjà utilisées en phytothérapie moderne. En effet, sur la base des études scientifiques, des préparations à base de différentes plantes comme la canneberge (*Vaccinium macrocarpon* L), la busserole (*Arctostaphylos uva ursi* L.), etc. sont proposées en phytothérapie moderne dans le traitement des infections urinaires et la cystite (Avon et coll., 1994; Bruneton, 2002; Graz et Falquet, 2002). De la même manière les extraits des plantes et des recettes ont montré une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* responsable dans 75 à 85% des cas d'infections urinaires et de cystite.

Le traitement des infections urinaires et la cystite nécessite une préparation antibactérienne, antalgique et angioprotectrice pour éliminer les germes responsables de l'infection, combattre la douleur de miction mais aussi protéger les parois de la vessie pour éviter l'hémorragie qui est parfois associée à la cystite.

A partir de nos résultats, les extraits aqueux des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta* pourraient être proposés dans le traitement des infections urinaires et la cystite à la dose de 1000 mg/kg de drogue sèche.

L'utilisation traditionnelle des recettes dans le traitement des infections urinaires et la cystite est ainsi justifiée.

7. CONCLUSION

Au terme de notre étude, il ressort que les recettes préparées selon la méthode traditionnelle possèdent des vertus thérapeutiques qui justifient leur utilisation en médecine traditionnelle. Les extraits aqueux ont donné des rendements non négligeables. A travers les essais phytochimiques, de nombreux composés ont été identifiés tels que les tanins, des oses et holosides, mucilages, stérols et triterpènes, des anthocyanosides et leucoanthocyanes, les flavonoïdes etc. Ces composés sont connus pour leurs différentes propriétés antibactérienne, antioxydante et antalgique.

Les différentes activités pharmacologiques, antibactérienne, anti-oxydante, antalgique des recettes ont été confirmées permettant ainsi de justifier et de confirmer les indications thérapeutiques des préparations traditionnelles à base de *Stylosanthes erecta* par conséquent confirmer leurs indications thérapeutiques dans la prise en charge des infections urinaires et de la cystite.

Les extraits aqueux des deux recettes à base de *Stylosanthes erecta*, d'*Hibiscus* et de *Tamarindus* possèdent une activité antibactérienne sur *Escherichia coli*, responsable de 75 à 85% des infections urinaires et de la cystite, une activité antalgique et un effet bénéfique dans prévention d'hémorragies souvent associées à la cystite.

Ces extraits n'ont pas de constituants provoquant l'hémolyse et ne présentent aucune toxicité aux doses administrées par voie orale. En plus, les préparations aqueuses de calices d'*Hibiscus sabdariffa* et des fruits de *Tamarindus indica* sont deux boissons beaucoup consommées au Mali, ce qui nous rassure pour l'innocuité de ces préparations.

L'utilisation de ces recettes dans leur forme traditionnelle pourrait donc être utile en thérapeutique dans la prise en charge des infections urinaires et de la cystite.

Nous espérons par ce travail avoir marqué un point de départ vers la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré (MTA) indiqué dans les

infections urinaires et la cystite après approfondissement de certains aspects de la présente étude et la réalisation d'essais cliniques.

8. BIBLIOGRAPHIE

ACCT (1986) fiche espèce de *Euphorbia hirta* L. Revue Med Pharm. **0**, (0) : 18-31.

ACCT (1994) Fiche espèce de *Boerhavia diffusa*. Revue Med Pharm Afr . **1** (8) : 83-94.

ACCT (1998) Fiche espèce sur *Jatropha curcas* Linn. Revue Med Pharm Afr . (11-12) :205-222.

Adjanohoun E., Alyi A.M., Aké Assi L., Baniakina J., Chibon P., Cusset G., Doulou V., Enzanza A., Eymé J., Goudoté E., Kéïta A., Mbemba C., Mollet J., et coll.(1980). Médecine traditionnelle et pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. ACCT éd., Paris, 105 p.

Adjanohoun E., Alyi A.M., Aké Assi L., Baniakina J., Chibon P., Cusset G., Doulou V., Enzanza A., Eymé J., Goudoté E., Kéïta A., Mbemba C., Mollet J., et coll.(1988). Médecine traditionnelle et pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Congo.ACCT éd., Paris. 605 p.

Ake Assi L., Abeye J., Guinko S., Giguet R., Bangavou Y. (1978). Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en Empire Centrafricain. ACCT éd, Paris, 139 p.

Akinpelu D.A., Obuotor E.M. (2000). Antibacterial activity of *piliostigma thonningii* stem bark. Fitoterapia **71** (4) : 442-3.

Ali M.B., Mohamed A.H., Salih W.M., Homeida A.H. (1991). Effect of an aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* calyces on the gastrointestinal tract. Fitoterapia **6** (LXII) : 475-479.

Ali M.B., Salih W.M., Humida A.M. (1989). An oestrogen-like activity of *Hibiscus sabdariffa*. Fitoterapia **6** : 547-548.

Ali M.S., Ahmad V.U., Azhar I., Usmanghani K.(1998). Chemotropism and antimicrobial activity of *Tamarindus indica*. Fitoterapia **1** (LXIV) : 43-46.

Aouissa I. W-R. (2002). Etude des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse Pharmacie, Bamako, 130 p.

Asuzu I.U., Onu O.U. (1993). The *in vitro* toxicity of *P. thonningii* bark ethanolic extract on selected strongyle larvaw of cattle. Fitoterapia **6** (LXIV) : 524-528.

Asuzu I.U., Onu U.O. (1994). Anthelmintic activity of the ethanolic extract of *P. thonningii* bark in *Ascaridia galli* infected chickens. Fitoterapia **4** (LXV): 291-297.

Avon. J., Monane, M., Gurwitz, J.H. (1994). Réduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry juice, *JAMA*, **271**, 751-754.

Bauer, S.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Thurck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *American Journal of Pathology* **45** : 493-496.

Berland Y., Dussol B. (2000). Néphrologie pour l'interne (3). Faculté de Marseille édition Scientifiques et médicales Elsevier SAS.

Bernard J., Levy J.P., Varet B., Clauvel J.P., Rain J.D., Sultan Y.(1996). Abrégés d'Hématologie. Masson 8ème édition, Paris, 352 p.

Bombardelli E., Cristoni A., Lolla A., Morazzoni P., Mustich G., Pace R., Piretti M.V. (1994). Chemical and biological characterization of *P.thonningii* polyphenols. *Fitoterapia* **6** (LXV): 493-501.

Bombardelli E., Gabetta B. and Mustich G. (1973). Plants of Mozambique. Flavonoids of *P.thonningii*. *Fitoterapia* **2**(XLIV) : 85-87.

Bombardelli E., Morazzoni P., Mustich G. (1995). Pharmaceutical compositions containing extracts of *Piliostigma thonningii* as virucidal agents. (Indena S. p.A., Italy) *Can.Pat.Appl.* 16 p.

Bossokpi I. P. L. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (*Rutaceae*). Thèse de Pharmacie, Bamako, 133 p.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Éd Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 915 p.

Bruneton J. (2002). Phytothérapie Les données de l'évaluation. Ed Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 242 p.

Burkill H.M. (1995). The Useful plants of West Tropical Africa (3). Edition The trustess of Royal Botanic Gardens Kew, 857 p.

Burkill H.M. (1997). The Useful Plants of West Tropical Africa (4), 1ère édition, Edition The Trusters of Royal Botanic Gardens, Kew, 969 p.

Cavin A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires : *Tinospora crispa* (Menispermaceae), *Imerrenia emarginata* (Convolvulaceae), et *Orophea enneandra* (Annonaceae). Thèse, Doctorat, Lausanne, Suisse, 243 p.

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, 175 p.

Christiaens T., Callewaert L. (2000). La cystite chez la femme. Recommandation- Cystite chez la femme 28 p.

Cohen Y. (1997). Abrégés de Pharmacologie. Masson, 4ème édition, Paris, 466 p.

De la Pradilla C. F. (1981). Des plantes qui nous ont guéris. Vente librairie “ Jeunesse d’Afrique” Ouagadougou, 208 p.

Diallo D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicine 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, 221 p.

DMT (1989) Recette élaborée et expérimentée au Centre de Médecine traditionnelle au Mali.

Eddy N.B., Leimback D. (1953). Synthetic analgesic: II. Dithyienylbutenylamines and diethyienylbutylamines. Journal of Pharmacology and experimental Therapeutics **3**: 544-547.

Elegami A.A., El-Nima E.I., El Tohami M.S. et Muddathir A.K. (2002). Antibacterial activity of some species of family Combretaceae. Phytotherapy Research **16**: 555-561.

Eyog Matig O., Adjanohoun E., De Souza S. et Sinsin B. (1990). Programme de ressources génétiques forestières en Afrique au sud du Sahara (Programme SAFORGEN) Réseau “Espèces ligneuses médicinales”. Compte rendu de la première réunion du Réseau IPGRI, Station IITA Cotonou, Bénin, 15-17.

Fakae B.B., Campbell A.M., Barrett J., Scott I.M., Teesdale-Spitter F.H., Liebau E., Brophy P.M. (2000). Inhibition of glutathione S-transferases (GSTs) from parasitic nematodes by extracts from traditional Nigerian medicinal plants. Department of Veterinary Parasitology and Entomology, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria. Phytotherapy Research **14** (8) : 630-634.

Fattorusso V., Ritter O. (1990). Vademecum clinique du diagnostic au traitement. Masson, Paris, Milan, Barcelone, 1754 p.

Galand A. (2001). Facteurs favorisant les cystites dans Médecine des voyages. Global News Media St.Maur [www.primadoctor.com /globalnewsmedia](http://www.primadoctor.com/globalnewsmedia).

Gonthier R., Heritier Ph. (1988). Néphro-Urologie. Editions Collection Prép’internat, Lyon, 285 p.

Graz B. et Falquet J. (2000). Séminaire de Phytothérapie Moderne, Association Haiti-Cosmos, Novembre 2000.

Graz B. et Falquet J. (2002). Des plantes auxquelles se fier : Une sélection scientifique des plantes médicinales – guide pratique. Editions Payot, Lausanne, 191 p.

Guinko S., Zoungrana J., Guenda W., Tamini Z. et Millogo Rasolodimbi J. (1983). Apithérapie: Quelques usages médicinaux du miel dans l'ouest du Burkina faso. Médecine traditionnelle et pharmacopée. **2** (3) : 111-115.

Hamdan M., Wagner J. (1992). Cystite emphysémateuse. Annales d'Urologie **1** (26) Expansion Scientifique Française, Paris, 37-38.

Harborne, J.B. et Baxter, H. (1993). A handbook of bioactive compounds from plants. Phytochemical dictionary; Edition Taylor et Francis 449 p.

Huang, M.T. et Ferraro, T. (1991). Phenolic compound in food and cancer prevention. Phenolic compounds in food and their effect on health, (II) (Hang, M.T., HO, C.T. and Lee, C.V., Edit.). American chemical Society, Washington, 8-34.

Ibewuike J.C., Ogundaini A.O., Ogunbamila F.O., Martin M-T., Gallard J. F., Bohlin L., Paies M. (1996). Piliostigmin, a 2-phenoxychromone, and C-methylflavonols from *Piliostigma thonningii*. Phytochemistry **43** (3) : 687-690.

Imbali E.S., Ibrahim K.E., Ahmed B.M., Abulfutuh J.M., Hulbert P. (1992). Chemical characterization of tamarind bitter principle, tamarindineal. Fitoterapia **6** (LXIII) : 537-538.

Index nomenclature (1990-1991). International Drug Directory. Edited by Swiss Pharmaceutical Society in cooperation with Wiss. Verl-Ges Stuttgart, Govi-Verl, Frankfurt.

Jemni M., Njeh M., Ben Massaoud T., El Ouakdi M., Ayed M. (1992). La cystite nérosante calcifiée. Annales d'Urologie **6-7** (26) Expansion Scientifique Française, Paris 350-352.

Johnson M.A. (1990). Urinary tract infection in Women. Am. Fam. Physician **41**: 565 – 571.

Kanta F. B. (2000). Etude de l'activité anticandidosique de certaines plantes médicinales maliennes sur *Candida albicans*. Thèse Pharmacie, Bamako, 81p.

Keita R. M. (2002). Etude de l'activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie, Bamako, 107 p.

Kerharo J. et Adams G.(1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle Plantes médicinales et toxiques. Editions Vigot et frères, Paris, 1011 p.

Kernbaum S. (2001). Dictionnaire de Médecine. 7^{ème} édition, Flammarion, Paris.

Koné N. (1980). Plantes du cercle de Kolokani. Mémoire ENMP, Bamako, 201 p.

Koumaré B. (1980). Infections urinaires. Etude bactériologique- chimiothérapie. Le Mali médical **III** (2) : 20-23.

Kpakote K.G., Akpagana K., De Souza S., Menoneme A.Y., Djagba T.D., Bouchet Ph. (1997-1998). Etude sur les propriétés antimicrobiennes de quelques espèces de cure-dents du Togo. *Revue Med Pharm Afr* (11-12), 193-196.

Laughton M.J., Halliwell B., Evans P.J. et Hault J.R.S. (1989). Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin gossypol and myricetin. *Biochem Pharmacol.* **38**, 2859-2865.

Le Bras M. (1989). Editorial: Les céphalées. *Médecine traditionnelle et pharmacopée*, **2**, ACCT, Paris, 107-109.

Lecomte F., Libbey J. (1999). Les infections urinaires de la femme Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women . *Diseases Society of America (IDSA) Clin Infect Dis.* **29** (4), 745-58.

Lee R.I. (1913) White P.D A clinical study of coagulation time of blood. *Amer. J. Med. Sci.* **145**: 495.

Lobel Bernard (1998). Stratégies dans l'infection urinaire de la femme. *Annales d'Urologie* **6-7** (32), 353-358.

Lutete T. Kambu K., Ntondele D., Cimanga K. et Luki N. (1994) Antimicrobial activity of tannins. *Fitoterapia* **65** (3) : 276-278.

Madhavi D.L., Deshpandle S.S. et Salumkhe D.K. (1996). Food antioxidants, Technological, and health perspectives. Marcel Dekker, New York 101 p.

Malgras R.P.D. (1992). Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes Editions Karthala et ACCT, Paris, 478 p.

Meyrier A. (1985). Les Infections de l'appareil urinaire. Editions Médicales. MSD-Chibret. Paris.

Mintoh J. (1999). Problèmes urinaires des femmes. Les causes de la maladie et les voies à suivre dans Notre Voie (308) www.africaonline.cø.ci/AfricaOnline/infos

Miralles J., Gaydou E.M. (1986). Fatty and sterol composition of oils extracted seeds of three *Cassia* (Caesalpiniaceae) species from Senegal. Laboratory note. *Dep. Biol. Veg., Fac. Sci., Dakar, Senegal. Revue Française des Corps Gras* **33** (10) :381-4.

Mori S., Ojima Y., Hirose T., Sasaki T. et Hashimoto Y. (1972). The clinical effect of proteolytic enzyme containing bromelain and trypsin on urinary tract infection evaluated by double blind method. *Acta Obstet Gynaecol Jpn.* **19** (3): 147-53.

Naudin C., Grumbach N. (2002). Larousse médical. Larousse, Paris.

Neuwinger H.D. (1996). African ethnobotany Poisons and Drugs Chemistry Pharmacology- toxicology. Edition Chapman & Hall GmbH , Weinherm, 941 P.

Ntsame-Obame S., Badiane H., Daffe B. M., Temple R.A., Diallo S., Lo I. (1991). Activité antifongique *in vitro* des folioles de diverses espèces du genre *Cassia*: *Cassia alata* L., *Cassia sieberiana* D.C., *Cassia occidentalis* L., *Cassia tora* (Caesalpinaceae). Revue Med Pharm Africaine **1** (5) :49-54.

Ogundaini A. (1999). Antimicrobial agents from some Nigerian plants. Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Obafemi Awolowo University, Ile-Ife, Nigeria. Journal of Natural Products and Medicine **3** :26-27.

Ohnishi M., Morishita H., Toda S., Shirataki Y., Kimura M. et Kido R. (1994). Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic peroxidation and haemolysis. Phytochemistry **36** :579-583.

Paris M., Hurabielle M. (1981). Abrégés de matière médicale Pharmacognosie (1) Généralités- Monographies. Masson, Paris, 339 p.

Penso G. (1983). Index Plantarum Medicinalum Totus Mundi Eorumque Synonymorum. O.E.M.F, Milano, 1026 p.

Perchellet E.M., Gali H.U., Makkar P.S. et Perchellet J.P. (1996). Ability of tannins extracted from the leaves of various trees and shrubs to inhibit the biomarkers of tumor promotion in mouse skin *in vivo*. Anti-Cancer Drug Laboratory, Kansas State University, Manhattan, KS, USA. **9** (4): 801-809.

Pieri F., Kirkiacharian S. (1986). Pharmacologie et Thérapeutique. Ellipses, Paris, 512 p.

Rahalison, L. ; Hamburger, M. ; Hostettmann, K. ; Monod M. et Frenk, E. (1991) : A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. Phytochemical Analysis. **2**: 199 – 203.

Ross I. A. (1999). Medicinal Plants of the world Chemical constituents, Traditional and modern medicinal uses. Human Press, Totowa, New Jersey, 415 p.

Sahin, F., Karaman, I., Güllüce, M., Ögütçü et coll. (2003). Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L.. J. Ethnopharmacol. **87**: 61-65.

Sanou D. B. (1997). Etude de l'activité antifongique sur le *Candida albicans* de cinq plantes médicinales du Mali. Thèse de Pharmacie, Bamako, 84 p.

Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry **30** : 3875-3883.

Siegmund, E, Cadmus, R., Lu G. (1957). A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **95**: 729-731.

Smith MJH, Ford-hutchinson AW, Elliot PNC, Bolam J. (1974). Prostaglandin in the anti-inflammatory activity of a human plasma fraction in carrageenan-induced paw oedema in the rat. J Pharm Pharmacol **26**: 692.

- Snatzke F., Wolff P.** (1989). Constituents of the roots of *Piliostigma thonningii* (Leguminosae). Univ. Bocum, Bochum, Fed. Rep. Ger. Bulletin of chemical Society of Ethiopia **3**(2) : 135-8.
- Sylla A.** (1991). Contribution à l'inventaire des Antibilharziens et Molluscicides traditionnels du cercle de Kayes. Thèse de Pharmacie, Bamako, 87 p.
- Tolo A.D.** (2002). Etude des activités biologiques et de la toxicité des écorces de racine de *Securidaca longepedunculata* Fres (Polygalaceae). Thèse Pharmacie, Bamako, 110 p.
- Tomás-Barberan, F., Iniesta-San Martin, E., Tomás-Lorente, F. and Rumbero, A.** (1990). Antimicrobial phenolic compounds from three Spanish *Helichrysum* species. Phytochemistry **29** : 1093-1095.
- Torck M.** (1976). Revue de phytochimie: Les flavonoïdes des légumineuses. Fitoterapia **5**, (XLVII) : 195-242..
- Valnet Jean.** (1974). Le journal du docteur nature. Edition Maloine, Paris. 111 p.
- Valnet J.**(2001). Phytothérapie 6ème édition, Vigot, Paris, 698 p.
- Van Der Steur, Like.**(1994). Plantes médicinales utilisées par les Peul du Sénégal-oriental. Revue de médecine et pharmacopée africaines. **2** (8) : 189-200.
- Von Maydell H. J.** (1983). Arbres et arbustes du Sahel Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Edition gtz verlag josef margrof Scientific Books, Weikersheim, 531 p.
- Waterman Peter G., Faulkner Dalton F.** (1979) . Epiatzelechin from the root bark of *Cassia sieberiana*. Dep. Pharm. Chem., Univ. Strathclyde, Glasgow, UK. Planta Medica **37** (2) : 178-9.
- Yates M.** (1999). Urinary Tract infection in elderly *in* The Australian Journal of Hospital Pharmacy. **3** (29) : 166-170.
- Ybert E., De Laage de Meux Astrid** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales Identification, Préparations , Soins. Larousse dorling Kinderley Limited, Londres, 335p.
- Zech P., Perrin P., Laville M.** (1990). Encyclopédie de l'étudiant en Médecine Néphrologie Urologie. MEDSI /MC GRAW-HILL, Paris, 479 p.

ANNEXE

Annexe 1 Matériels techniques, réactifs utilisés dans les différents protocoles expérimentaux.

Préparation des extraits : Bain-marie Waterbath Bm 480, thermomètre, ballon, balance, entonnoir, erlen meyer, coton tissu Pergal, Rotavapor type 349/2 J Bibby, congélateur, lyophilisateur type Heto, agitateur magnétique.

Réactions de caractérisation : erlen meyer 250 ml, tubes à essai, papier filtre, ampoule à décanter, capsules, bain-marie, pipettes graduées, réfrigérant à reflux, ballon, verre de montre, entonnoir, coton, spatule, portoirs, étuve, four.

Chromatographie sur couche mince : cuve de verre, micropipettes, lampe UV type DESAGA, silicagel 60F254 (Merck).

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 suivi de la solution B puis chauffer en observant
Substances détectées: réactifs polyvalents

Réactif de Dragendorff : Solution A: dissoudre 0.85g de nitrate basique de bismuth, 10g d'acide tartrique dans 40 ml d'eau. Solution B: dissoudre 16g d'iodure de potassium dans 40 ml.

Au moment de l'emploi, mélangez 5 ml de solution A + 5ml de solution B + 20g d'acide tartrique. Substances détectées: tâches oranges qui disparaissent avec le temps.

Réactif pour les flavonoïdes: Solution éthanolique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 5%

Réactif pour les tanins: Solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 10% dans le méthanol à 50%.

Activité antibactérienne des extraits et recettes : pipettes graduées, pince, pipette Pasteur, disques pour antibiotique non imprégnés, boîtes stériles, micropipettes, poire, boîtes de Petri, tubes à essais.

Activité antifongique : Autoclave, baguette, erlen meyer (50 ml), agitateur magnétique, plaques de Silicagel, micropipettes, cuve de verre, bec Bunsen, Malt Agar, gélose Sabouraud glucosée, Sabouraud bouillon, révélateur

Activité anti oxydants des extraits et fractions : Cuve de verre, plaque Silicagel, révélateur, micropipettes

Activité hémostatique

Tubes en verre ordinaire de 75 x 10 mm

Bain-marie, chronomètre, micropipette, seringue, garrot, coton hydrophile

Activité analgésique :

Balance analytique, sonde gastrique, seringue graduées et aiguilles, gants, cage

Appareil : Plaque chauffante

Annexe 2. Formule nutritionnelle des souris ayant servi à l'étude pharmacodynamique (CNAM)

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 : Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite

Nom: **EKOUMOU**

Prénom: **Colette**

Année: 2003

Ville de soutenance: Bamako

Pays d'origine: Cameroun

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS)

Secteur d'intérêt: Recherche en Médecine traditionnelle

Résumé

Ce travail a porté sur l'étude de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Les objectifs fixés étaient de sélectionner par un screening phytochimique et biologique parmi 5 recettes traditionnelles les plus intéressantes en vue d'approfondir notre étude par des tests antibactériens, hémostatiques (hémolitique) et antalgique sur ces dernières.

Les réactions en tube, la chromatographie sur couche mince ont montré la présence de nombreux composés susceptibles de manifester les activités recherchées.

Les résultats des études scientifiques sur 2 recettes à 20% à base de *Stylosanthes erecta* associé à *Tamarindus indica* ou à l'*Hibiscus sabsdariffa* confirment leur utilisation traditionnelle par leur activité antibactérienne sur *Escherichia coli* responsable de 75 à 80% des infections urinaires, leur activité antalgique est comparable à celle du Paracétamol et de l'Indométacine dans nos conditions expérimentales.

Mots clés: Infections urinaires, Cystite, Activité antibactérienne, Antalgique, *Hibiscus sabsdariffa*, *Stylosanthes erecta*, *Tamarindus indica*.

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 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'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y maque.

Je le jure.