

MINISTERE DE L'EDUCATION
NATIONALE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi

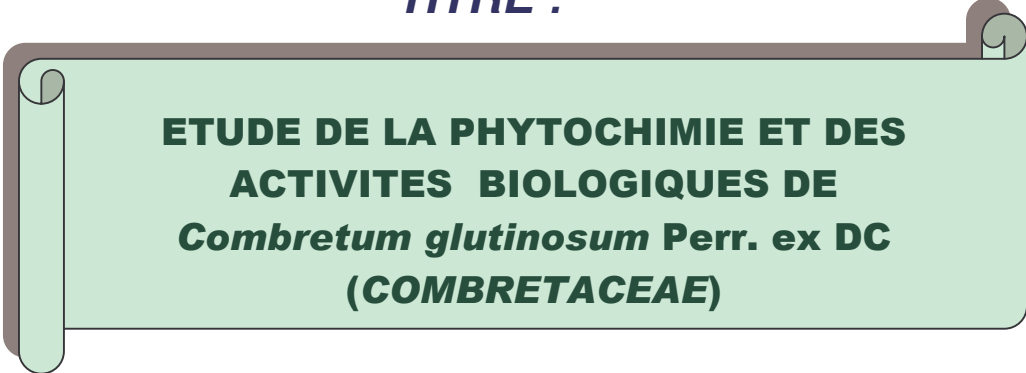
UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année universitaire : 2004 – 2005

N° ...

TITRE :



**ETUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DES
ACTIVITES BIOLOGIQUES DE
Combretum glutinosum Perr. ex DC
(COMBRETACEAE)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le ...décembre 2004 devant
la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par

Monsieur Boubacar Souley AMADOU

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président :

Professeur Moussa HARAMA

Assesseurs :

Professeur Yénimégué Albert. DEMBELE

Docteur Ibrahim MAIGA

Directeur de thèse :

Professeur Drissa DIALLO



***DEDICACES ET
REMERCIEMENTS***

DEDICACES

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

« Gloire à Toi ! Nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris. Certes c'est Toi l'Omniscient, le Sage » : Sourate 2, Verset 32 (Saint Corant).

Louange et Gloire à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed, Paix et Salut sur lui, le seau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam

A mon père El hadj Souley AMADOU :

J'ai toujours trouvé auprès de toi, compréhension et soutien. Tes prières et tes conseils ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études. Trouve à travers ce modeste travail, la récompense de ton affection, de tes sacrifices et de ta patience.

A ma mère Fatouma MOUMOUNI :

Si les parents doivent regretter quelque chose un jour, c'est de n'avoir pas assez fait pour l'éducation de leurs enfants ; les enfants de n'avoir pas assez aimé leurs parents.

Maman, je n'oublierai jamais tes sages conseils prodigués à mon endroit. C'est toi qui disais qu'on ne remercie pas ses parents. Seulement, je ne trouve pas aujourd'hui un moyen d'éviter de te remercier pour tout ce que tu as fait pour nous. Ton souci primordial a toujours été la réussite de tes enfants. Que tes sacrifices, des peines et tes privations trouvent leur récompense dans l'aboutissement de ce modeste travail qui est aussi le fruit de ta persévérance, de ton courage et surtout de ta patience. Ce travail est également le fruit de ton amour, tes bénédictions et surtout ta bonne éducation. Je voudrais à travers ce modeste travail, te rendre un hommage mérité et te dire combien je suis fier de l'éducation que tu nous as donnée. Puisse le Tout Puissant nous accorder de t'avoir encore longtemps auprès de nous pour que tu puisses bénéficier de l'ombre de l'arbre que tu as si jalousement protégé et entretenu.

A mon oncle et à mes tantes : Issa, Kadi et Haoua MOUMOUNI :

Vous m'avez beaucoup soutenu à travers vos conseils, vos encouragements et vos bénédictions. Trouvez à travers ce modeste travail, l'expression de ma profonde reconnaissance et le témoignage de mon profond respect

A mes frères et sœurs : Soumana, Abdoulaye, Omar et Nafissa SOULEY AMADOU :

A force de courage et de persévérance, j'achève aujourd'hui un travail qui est aussi le vôtre. Puisse l'affection, la confiance et la solidarité qui nous animent rester inébranlables. Fraternellement !

A la mémoire de mes frère et sœur : Feus Soumaila et Roukaila SOULEY AMADOU :

Vous nous avez quittés très tôt, mais votre souvenir toujours vivace dans mon cœur m'a soutenu tout au long ce travail. Ce travail vous est dédié en témoignage de mon profond respect pour vos âmes respectives. Dormez donc en paix.

A la mémoire de ma grand-mère : Feue Mariama ABDOU :

Les mots me manquent pour t'exprimer toute ma reconnaissance. Ta vie durant, tu n'as ménagé aucun effort pour ma réussite. Je n'oublierai jamais tes conseils, tes bénédictions, tes privations et surtout tes sacrifices consentis à mon égard. Tu as su m'inculquer les vertus du travail bien fait, l'amour du prochain et l'humilité. Ce travail t'est dédié en témoignage de mon profond respect pour ton âme et en reconnaissance de ton affection. Dors en paix Grand-mère et que le Tout Puissant t'accepte dans son paradis.

A mes oncles et tantes, pour vos conseils et vos encouragements. Recevez à travers ce modeste travail l'expression de ma profonde gratitude et de ma sincère reconnaissance.

A mes cousins et cousines : Reconnaissance infinie.

A mes neveux et nièces .

A mes amis et frères : Papa Maïga, Hamani Idrissa, Mourtala Assao : Plusque des voisins, nous sommes des frères. Restons donc unis. Merci pour le soutien moral.

A mes amis d'enfance : Je garderai toujours en souvenir les moments que nous avons passés ensemble. Que Le Tout Puissant nous garde aussi longtemps ensemble et qu'il guide nos pas sur le droit chemin !

A mes camarades et amis : Adamou Saidou, Moustapha Tahirou, Souleymane Aouami, Zibo Diawara, Zara Kala, Hamsatou Djermakoye, Ramatou Boubacar, Hadiza Gao, Hamani Idrissa, Mohamed Maiga, Abdoul Sangaré, Hamane Touré, Drissa Sidibé, Pinda Thiam, Djamila Bello, Halima Sombo, Aissa Cissé, Abdoulaye Dicko, Rokia Dembelé. Continuons dans la voie de la consolidation de nos liens d'amitié et de fraternité gardons toujours l'esprit d'équipe. Bonne chance à nous tous. Amicalement.

A mes camarades du club des amis: Garba Mamane Salissou, Oumarou Aboubacar, Mourtala Assao, Ali Kalilou. Restons solidaires, nous gagnerons inch Allah.

A mes cadets : Dominique ARAMA, Mariam, Niaré. Du courage et bonne chance. Soyez surtout persévérants et patients.

A mes amis de l'internat de la FMPOS : Toute ma gratitude.

A tous ceux qui se rappellent encore de mon nom.

MENTION SPECIALE

A l'Université d'Oslo (Norvège) : pour le soutien matériel et financier à travers le projet CNRST/ NUFU Plantes médicinales (République du Mali / Gouvernement Norgévien).

Au Professeur Berit Smestad PAULSEN de l'Université d'Oslo, pour les conseils techniques que vous nous avez prodigués lors de votre séjour au Mali. Veuillez accepter ce travail comme le fruit de votre apport inestimable tout au long de sa réalisation.

A l'Institut des Maladies Tropicales de Bâles en Suisse pour son concours technique dans la réalisation de ce travail

Au Professeur Drissa DIALLO

Votre souci majeur a été l'aboutissement de ce travail qui a nécessité votre concours sous toutes les formes. Grâce à vous, nous avons appris la rigueur scientifique et l'amour du travail bien fait. Puisse le Tout Puissant vous aider à réaliser vos projets les plus chers et vous accorder longue vie. Respectueusement.

Au Docteur Rokia SANOGO

Nous garderons de vous le souvenir d'un maître disponible, toujours à l'écoute de ces élèves. Soyez en donc remerciée.

Au Docteur Ababacar MAIGA

Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre aide tout au long de ce travail. Veuillez recevoir en retour nos sentiments de profonde reconnaissance.

Au Docteur Ibrahim MAIGA, chef du Service du Laboratoire de Biologie Médicale de L'Hôpital National du Point G et à tous les Techniciens de ce Service pour leur esprit de collaboration et de courtoisie dont ils ont su faire montre tout au long de notre séjour.

A mon sauveur et grand frère : Docteur Abdoulaye Adamou : Je n'oublierai jamais ce que vous avez fait pour moi tout au long de la réalisation de ce travail. Vos sages conseils techniques ont

beaucoup contribué à la réalisation de ce travail. Que Dieu vous aide à réaliser vos projets les plus chers !

A tout le personnel du laboratoire du Département Médecine traditionnelle :

Mr Famolo DIARRA, Mr Kassim COULIBALY, Mme MAIGA, Mr Seydou DEMBELE, Mr. Karim FOFANA, et à l'équipe de la production, pour leur disponibilité.

A tous les camarades finalistes en pharmacie de la promotion Professeur Boubacar Sidiki CISSE pour le soutien moral.

A mes camarades internes du laboratoire du DMT : Judith MOGODE, Oumar SANGARE, Sory DIALLO, Yaya TGOLA, Sandrine FOTSING, Aissata DIALLO, Fatim OUATTARA, Aminata KEITA, Amadou DIALLO, Nouhoun KONATE, Arima OUSMANE, Grete HOPE, Moussa DOUMBIA, Mme COULIBALY Mariam, pour les moments agréables et inoubliables passés ensemble. Bonne carrière professionnelle à tous. Amicalement !

REMERCIEMENTS

Au Mali et au peuple malien : Nous n'oublierons jamais les moments mémorables passés dans ce pays, symbole d'une tradition d'hospitalité légendaire. Puisse le Tout Puissant veiller longtemps sur ce pays à qui, nous devons beaucoup Très cordialement!

Au Niger et à son peuple : Pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires tout au long de notre séjour en terre malienne, dans le cadre de nos études.

Au corps professoral de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie pour la qualité de la formation reçue.

A mes enseignants de l'école primaire, du collège et du lycée

.

A mon maître de l'école coranique .

A mon oncle Mr Mohamed KANTE et son épouse Mme KANTE Maimouna TOURE

Veillez accepter ce travail, comme le fruit de tous les efforts consentis mais aussi l'expression de ma profonde gratitude et de ma reconnaissance infinie.

A tous les Etudiants nigériens au Mali pour le soutien moral. Que Dieu nous aide à atteindre nos objectifs dans ce pays ! Cordialement.

A toutes les Communautés africaines au Mali : pour l'esprit de collaboration et de courtoisie.

A l'assistance pour le soutien moral.

Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie. Très cordialement.



***HOMMAGE A NOS
MAITRES ET JUGES***

**A notre maître et président du jury : Professeur Moussa HARAMA :
Professeur titulaire de chimie organique à la faculté de médecine, de
pharmacie et d'odontostomatologie**

Honorable maître, c'est un réel plaisir pour nous que vous ayez accepté de présider notre jury de thèse. Votre rigueur scientifique, votre humilité et vos qualités humaines ne font l'ombre d'aucun doute.

Veillez accepter cher maître, nos sentiments de sincère reconnaissance.

**A notre maître et juge : Professeur Yénimégué Albert DEMBELE:
Maître de conférences agrégé en chimie organique à la faculté de médecine, de
pharmacie et d'odontostomatologie
Secrétaire principal de la faculté de médecine, de pharmacie et
d'odontostomatologie**

Honorable maître, c'est un immense plaisir que vous nous faites en acceptant de participer à l'amélioration de la qualité de ce modeste travail.

Veillez accepter cher maître nos sincères remerciements et notre infinie reconnaissance.

A notre maître et juge : Docteur Ibrahim MAIGA
Maître assistant de bactériologie -virologie à la faculté de médecine, de
pharmacie et d'odontostomatologie
Chef de service du laboratoire de biologie médicale et hygiène hospitalière de
l'hôpital national du Point G

Honorable maître, nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce modeste travail. Votre simplicité et votre rigueur scientifique font de vous un maître aimé et respecté de ses élèves.
Soyez assuré cher maître, de notre profonde reconnaissance.

A notre maître et directeur de thèse : Professeur Drissa DIALLO :
Maître de conférences agrégé de pharmacognosie à la faculté de médecine, de
pharmacie et d'odontostomatologie
Chef de service du département médecine traditionnelle de l'institut national
de recherche en santé publique

Honorable maître, la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de diriger ce travail nous reconforte à plus d'un égard. Notre séjour dans votre service nous a permis d'apprécier en vous vos imminentes qualités humaines et scientifiques :
disponibilité, ponctualité, rigueur et amour du travail bien fait.
Veillez accepter cher maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

SOMMAIRE

Table des matières	Pages
CHAPITRE 1.....	1
Introduction.....	2
Motivations.....	3
Objectifs.....	3
CHAPITRE 2 : TRAVAUX ANTERIEURS.....	4
2.1 : Monographie de <i>Combretum glutinosum</i> Perr. ex DC.....	5
2.2 : Les antioxydants.....	13
2.3 : Les antifongiques.....	23
2.4 : Les infections bactériennes.....	29
2.5 : Les inflammations.....	36
2.6 : Le paludisme.....	42
CHAPITRE 3 : TRAVAUX PERSONNELS.....	49
3.1 : Méthodologie.....	50
3.1.1 : Etudes phytochimiques.....	50
3.1.1.1 : Matériel végétal.....	50
3.1.1.2 : Identification de la matière première.....	50
3.1.1.3 : Réactions de caractérisation.....	51
3.1.1.4 : Extractions	60
3.1.1.4.1 : Matériels.....	60
3.1.1.4.2 : Extraction avec l'eau.....	60
▶ Décoction à l'eau.....	60
▶ Macération.....	60
3.1.1.4.3 : Macération avec l'éthanol à 80%.....	61
3.1.1.4.4 : Extraction avec les solvants à polarité croissante.....	62
3.1.1.5 : Chromatographe sur couche mince.....	64
3.1.2 : Tests biologiques.....	65
3.1.4.1 : Détermination de l'activité antioxydante.....	65

3.1.4.2 : Détermination de l'activité antifongique.....	66
3.1.4.3 : Détermination de l'activité antibactérienne.....	71
2.1.4.4 : Détermination de l'activité anti-inflammatoire.....	73
2.1.4.5 : Détermination de l'activité antiplasmodiale.....	76
3.2 : Résultats.....	78
3.2.1 : Etudes phytochimiques.....	78
3.2.1.1 : Réactions de caractérisation.....	78
3.2.1.1.1 : Réactions en tubes sur la poudre des écorces de tronc.....	78
3.2.1.1.2 : Dosage de certaines substances.....	79
3.2.1.1.3 : Réactions en tubes sur la poudre des écorces de racines.....	81
3.2.1.1.4 : Dosages de certaines substances.....	81
3.2.1.2: Extractions.....	84
3.2.1.3: Chromatographie sur couche mince.....	85
3.2.2: Tests biologiques.....	92
2.2.2.1: Détermination de l'activité antioxydante.....	92
3.2.2.2: Détermination de l'activité antifongique.....	95
3.2.2.3: Détermination de l'activité antibactérienne.....	96
3.2.2.4 : Détermination de l'activité anti-inflammatoire.....	100
3.2.2.5 : Détermination de l'activité antiplasmodiale.....	103
ANALYSES ET DISCUSSIONS.....	105
CONCLUSION.....	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	115
ANNEXES.....	122
RESUME.....	124

Lexique des abréviations et symboles chimiques

ADN : Acide désoxyribonucléique

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien

Al : alliés

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ARNt : ARN de transfert

β: beta

<: Inférieur

> : supérieur

AUG : Augmentation

BAAR : Bacille acido alcool résistant

B A W : Butanol acetic acid water

CCM : Chromatographie sur couche mince

Cm : centimètre

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

CO₂ : Gaz carbonique

CuSO₄ : Sulfate cuivrique

DPPH : 1,1 diphényl 2 picrylhydrazyle

DCM : Dichlorométhane

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DMT : Département Médecine Traditionnelle

° C : Degré Celcius

EtOH : Ethanol

FeCl₃ : Chlorure ferrique

FeSO₄ : Sulfate ferreux

FMPOS : Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie

g : gramme

HHDP : Acide hexahydroxydiphénique

HCCL₃ : Chloroforme
HCl : Acide chlorhydrique
IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50
INH : Inhibition
INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
KOH : hydroxyde de potassium
kg : kilogramme
LDL : Low density lipoprotein
MeOH : Méthanol
mg : milligramme
MH : Mueller Hinton
ml : millilitre
mm : millimètre
mn : minute
MTA : Médicament traditionnel amélioré
MTT : Méthylthiozoyltétrazolium
M/V : Masse par volume
N₂ : Azote moléculaire
NaHCO₃ : **Hydrogénocarbonate** de sodium
nm : nanomètre
O₂ : Oxygène moléculaire
¹O₂ : Oxygène singulet
OMS : Organisation mondiale de la santé
PE : Prise d'essai
% : pour cent
q s p : Quantité suffisante pour
Rf : Rapport frontal
RM : Raymond Marthoud
SD : Déviation standard
SDA : Sabouraud Dextrose Agar
SDB : Sabouraud Dextrose Broth

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

T : Tare

µg: microgramme

µl : micro litre



CHAPITRE 1

Introduction

L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu en Afrique. Son accessibilité, sa disponibilité et sa popularité ne font l'ombre d'aucun doute, dans la mesure où environ 80 % d'Africains y ont recours pour leurs besoins de santé.

Par ailleurs, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 90 % de la médecine traditionnelle en Afrique (OMS, 2003).

Ces dernières années, plusieurs molécules isolées des plantes sont devenues des médicaments efficaces: citons par exemple le taxol issu de *Taxus baccata* L. (*Taxaceae*) pour ses propriétés anticancéreuses remarquables (cancer de l'ovaire et cancer du sein) et de l'artémisinine isolée de *Artemisia annua* L. (*Asteraceae*) pour ses propriétés antipaludiques (Hostettmann, 2001).

Au Mali, le Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), centre collaborateur de l'OMS, travaille avec les thérapeutes traditionnels afin de mettre à la disposition des populations, des médicaments traditionnels améliorés (MTA) à bases de plantes. Ainsi, sept MTA ont été déjà mis sur le marché pharmaceutique (Diallo, 2000).

Combretum glutinosum Perr. Ex DC, est une plante réputée pour ses diverses vertus. Cette plante, qui est au Sénégal l'espèce la plus prescrite par les thérapeutes traditionnels est utilisée traditionnellement pour traiter diverses affections notamment le paludisme, l'hypertension artérielle, l'anémie, la fièvre bilieuse hématurique, la blennorragie, la syphilis, les plaies, la toux, l'ictère, les pneumonies, les spasmes (Traoré, 1983 ; Malgras, 1992).

Nos investigations ont concerné la caractérisation des différents groupes chimiques et les activités antioxydante, antifongique, antibactérienne, anti-inflammatoire et antiplasmodiale.

Motivations

Notre travail a été motivé d'une part, par le souci de valoriser et de promouvoir les plantes médicinales du Mali, en vue de faciliter l'accès des populations à des médicaments traditionnels améliorés à moindre coût, et d'autre part, par la nécessité d'objectiver ou d'infirmier les utilisations traditionnelles de *Combretum glutinosum* Perr. ex DC.

Objectifs

Objectif général

Étudier la phytochimie et les activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. ex DC .

Objectifs spécifiques

- ▶ Identifier les principales utilisations traditionnelles de *Combretum glutinosum*;
- ▶ Identifier les différents groupes chimiques présents dans les poudres des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum* ;
- ▶ Déterminer l'activité antioxydante des extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques et dichlorométhaniques des poudres des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum* ;
- ▶ Déterminer l'activité antifongique des extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques et dichlorométhaniques des poudres des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum* ;
- ▶ Déterminer l'activité antibactérienne des extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques et dichlorométhaniques des poudres des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum* ;
- ▶ Déterminer l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques et dichlorométhaniques des poudres des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum* ;
- ▶ Déterminer l'activité antiplasmodiale des extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques et dichlorométhaniques des poudres des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum*.



CHAPITRE 2 :
TRAVAUX ANTERIEURS

2.1 : Monographie de *Combretum glutinosum* Perr. ex DC

Combretum glutinosum, couramment appelé Kinkeliba coriace est une plante de la famille des *Combretaceae*. Cette famille est constituée de 18 genres dont 370 espèces de *Combretum* (Malgras, 1992 ; Mc Gaw et al, 2001).

2.1.1: Position dans la systématique (Creté, 1965)

Règne :	Végétal
Sous règne :	Eucaryotes
Embranchement :	Spermatophytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Série :	Dialypétales
Ordre :	Myrtales
Famille :	<i>Combretaceae</i>
Sous famille :	<i>Combretoideae</i>
Genre :	<i>Combretum</i>
Espèce :	<i>glutinosum</i>

2.1.2 : Synonymes (Maydell, 1980)

Combretum passargei Engl. Et Diels

Combretum leonense Engl. Et Diels

Combretum hypopilinum Diels

2.1.3 : Noms locaux de *Combretum glutinosum* (Enda.sn, 2003 ; Kerharo et Adam, 1974)**Tableau I** : NOMS LOCAUX DE *Combretum glutinosum*

Pays	Ethnies/ Dialectes	Appellations
Bénin	Gbe- Fon	Dosso
	Gen	Atissainsain
	Vhe	Atkipi
Burkina Faso	Gourmantché	Lifapelu
	Mossi/ Mooré	Koagenga
Côte d'Ivoire	Maninka	Naiargbwé
Ghana	Grussi- Kassena	Vakogu
	Nabt	Nkunga
Guinée	Mandingue	Dâbakatâ
Mali	Bambara	Tchyangara blè, Tâgara
	Bobo	Intianon
	Minyanka	Kogolo-Kagala
	Peulh	Dooki, Buski
	Soninké/ Marka	Banamba
	Sonrhaï	Kokorba
	Tamacheck	Akalafa
	Maure	Tikfit
Niger	Djerma	Kokorbey
	Hausa	Taramnya
	Tubu	Kadagar
Nigeria	Fula/ Fulfuldé	Boodi
	Yoruba	Dagudo
Sénégal	Diola	Kalakudum
	Sérère	Yaay
	Toucouleur	Dodjié kewudé
	Wolof	Ratt

2.1.4: Description botanique

Combretum glutinosum se présente sous forme d'arbre ou d'arbuste pouvant atteindre 12 m de haut. La plante est facilement reconnaissable par ses grosses feuilles alternes, verticillées ou opposées, et se distingue des autres espèces de *Combretum* par ses sept à dix nervures saillantes (Maydell, 1980).

Le tronc est souvent tordu et recouvert d'une écorce rugueuse.

Les feuilles sont très polymorphes sur le même arbre. Elles sont collantes et poisseuses, très profondément réticulées à la face inférieure avec une pubescence blanchâtre ou parfois presque glabre. Le revêtement tomenteux des rameaux, toujours visible à la loupe, est un signe caractéristique typique de l'espèce.

Combretum glutinosum présente des fleurs en épis axillaires de couleur jaunâtre, mesurant 6 à 10 cm de long.

Les fruits sont des akènes indéhiscentes, avec 4 ailes membraneuses, renfermant une graine dépourvue d'albumen. Ils sont sans écailles, légèrement collants, mesurant 2,5 à 3 cm de long sur 2,8 cm de diamètre. Ils sont verts dans la jeunesse, à maturité rouge-vif, et ficelés (Malgras, 1992 ; Kerharo et Adam, 1974).



Figure n° 1: *Combretum glutinosum*



Rameau feuillé

2.1.5 : Cycle végétatif

Les feuilles de *Combretum glutinosum* apparaissent de novembre à février ; les fleurs de décembre à avril ; et les fruits dès fin décembre (Malgras, 1992).

2.1.6 : Distribution géographique

Combretum glutinosum est une plante originaire de l'Afrique tropicale. Elle existe dans les régions soudano-guinéennes, du Sénégal jusqu'au Soudan. C'est une espèce également retrouvée dans les savanes boisées à l'intérieur du Sénégal et aux environs du lac des Guiers (Kerharo et Adam, 1974).

2.1.7 : Station

Combretum glutinosum est rencontrée au Sahel sur les dunes fixées, dans le Sahel soudanais, sur les sols pierreux, ainsi que dans la zone soudanienne sur les latérites. C'est un arbre qui colonise les jachères. Il est retrouvé au bord des mares, ainsi qu'en Mauritanie où il existe avec 200 mm de pluie. C'est une espèce qui résiste à la sécheresse (Maydell, 1980 ; Kerharo et Adam, 1974).

2.1.8 : Utilisations en médecine traditionnelle

Combretum glutinosum est l'espèce de *Combretum* la plus répandue au Sénégal et la plus prescrite par les thérapeutes traditionnelles dans le traitement des affections courantes sur l'ensemble du territoire. (Kerharo et Adam, 1974).

La grande considération dans laquelle elle est tenue se reflète même dans certains de ses noms vernaculaires. Ainsi, le nom Sérère « Yaye » signifie « la mère des médicaments » ; le nom Socé « Diambakatan » signifie « la feuille qui ne déçoit pas » (N Gaba et *al.*, 1980).

La plante est employée en médecine populaire dans le traitement des affections hépato-biliaires, les affections urinaires, les œdèmes, l'hypertension artérielle, la toux, le paludisme, les gastrites infantiles, la protéinurie (Enda.sn, 2003).

2.1.8.1 : Les feuilles

Les feuilles sont utilisées pour leurs propriétés diurétique, cholagogue, dépurative et fébrifuge, sous forme de décocté ou d'infusé, à raison de 5 feuilles pour un litre d'eau. Les bourgeons de feuilles sont pilés, mélangés à la bouillie de mil rouge refroidie, puis administrés dans le traitement de la dysenterie, (Enda.sn. 2003).

Les feuilles vertes, écrasées sont appliquées sur les blessures que l'on lave aussi avec une infusion de feuilles. Elles sont également administrées en cas de bronchite, de malaria, d'anémie, de migraine, d'épanchement sanguins, ainsi qu'en cas de rhume (Maydell, 1980).

Les feuilles tendres en décoction, sont utilisées pour traiter la toux, la fièvre des enfants et dans les soins des plaies en bain et lotion. Le décocté est aussi utilisé en bain et fumigation comme défatigant et dans les maux de poitrine. Les rameaux feuillés en décoction, sont utilisés dans le traitement de l'ictère, le paludisme, la gastrite infantile et les conjonctivites (Malgras, 1992).

Le macéré de 24 heures des feuilles pulvérisées, ajouté de sel gemme, pris par voie orale, traite la fièvre bilieuse hémoglobinurique. Les tendres feuilles mâchées et la salive avalée (trois bouffées), traitent l'amibiase dysentérique. Le macéré des feuilles pilées, additionné d'alun est administré à jeun en cas de constipation. Chez les femmes sujettes à des avortements répétés, l'infusé des feuilles est régulièrement pris en boisson et bain au cours de la grossesse et quelques temps avant celle-ci. En cas de morsure de serpent, les tendres feuilles sont mâchées et le jus avalé, puis le résidu est appliqué sur la blessure (Traoré, 1983).

Au Sénégal, les feuilles ont une haute réputation pour le traitement des maladies de la poitrine, les coliques, les maladies de l'estomac.

En Gambie et au Nigeria, le macéré des feuilles est pris comme purgatif.

En Côte d'Ivoire, les Maninka prennent le décocté des feuilles en bain et courant d'air, contre la fatigue générale. Les feuilles séchées et concassées sont utilisées dans les hémorragies post circoncisionnelles (Burkill, 1985).

La décoction des feuilles est aussi utilisée comme diurétique – hypotenseur à la posologie de 30 g de feuilles dans un litre d'eau (Pousset, 2004).

2.1.8.2 : Les écorces

Les écorces de tronc, de tige et de racines sont utilisées comme antihelminthiques et aphrodisiaque. L'infusé des écorces est utilisé au Sénégal pour arrêter les vomissements et comme revigorant sexuel (Enda.sn, 2003).

Les écorces broyées donnent une sorte de peluche utilisée avec succès sur les blessures. Les Peuhls du Nigeria utilisent l'infusé des écorces pour se baigner en cas de grippe et de rhumatisme (Burkill, 1985).

2.1.8.3 : Les racines

Les extraits de racines sont utilisés contre les maladies de l'estomac ainsi que la toux (Maydell, 1980).

Le décocté de racines est utilisé contre les douleurs rénales d'origine diverse, ainsi que contre la blennorragie (Burkill, 1985).

2.1.8.4 : Les fruits

Les fruits immatures séchés et pilés, sont actifs sur les chancres syphilitiques.

Les graines vertes écrasées sont utiles dans le traitement des blessures, la syphilis, ainsi que dans l'art vétérinaire (Maydell, 1980).

2.1.8.5 : la gomme

Combretum glutinosum fournit une gomme dite gomme de troisième choix. Cette gomme est utilisée en pharmacie comme laxatif et antidiarrhéique. Son pouvoir adhésif permet son utilisation dans l'appareillage des colostomies et également pour la fixation des prothèses dentaires (Sanogo, 1999).

2.1.8.6 : Autres utilisations

La plante est souvent aussi utilisée en association avec d'autres plantes à vertus médicinales reconnues comme *Ximenia americana* L. (*Olacaceae*) dans le traitement de la fièvre jaune, *Securinega virosa* (Roxb) Baill (*Euphorbiaceae*) dans le traitement de la bilharziose, *Strophantus sarmentosus* DC. (*Apocynaceae*) dans le traitement de la lèpre, *Guiera senegalensis* J.F.Gmel. (*Combretaceae*) dans le traitement de l'impuissance sexuelle, *Balanites aegyptiaca* L. (Del) (*Balanitaceae*) dans le traitement des maladies mentales (Maydell, 1980).

Le tronc donne un bois jaune et dur. Ce bois est utilisé dans la construction des huttes. C'est un bois de feu et de charbonnage de bonne qualité. Les extraits des écorces de tronc donnent un colorant jaune excellent utilisé dans l'indigoterie.

2.1.9 : Données phytochimiques (Kerharo et Adam, 1974 ; Traoré, 1999)

Dans les feuilles de l'espèce sénégalaise, ont été décelés les constituants chimiques suivants :

▶ quatre hétérosides flavoniques ;

▶ des composés poly phénoliques :

des tanins : tanins hydrosolubles et tanins condensés ou proanthocyanidols. La combreglutinine est un tanin hydrolysable isolé de l'extrait méthanolique au soxhlet des feuilles de l'espèce sénégalaise. Trois autres tanins ont été isolés de cet extrait. Il s'agit du 2,3 - (S) hexahydroxydiphényol - D - Glucose, de la punicaline et de la punicalgine. (Akino et *al.*, 1994).

▶ des flavonoïdes ;

▶ des stilbenoïdes (combretastatines) ;

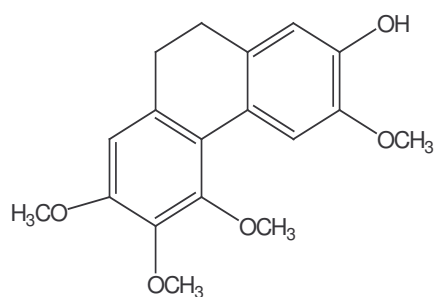
▶ des alcaloïdes ;

▶ des acides organiques : acide gallique, acide ellagique, acide férulique ;

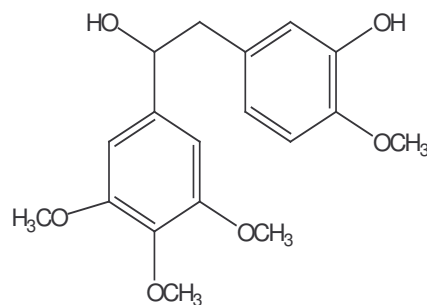
▶ des leucocyanidols et leucodelphinidols.

2.1.10 : Structures chimiques de quelques composés isolés des feuilles de *C. glutinosum*

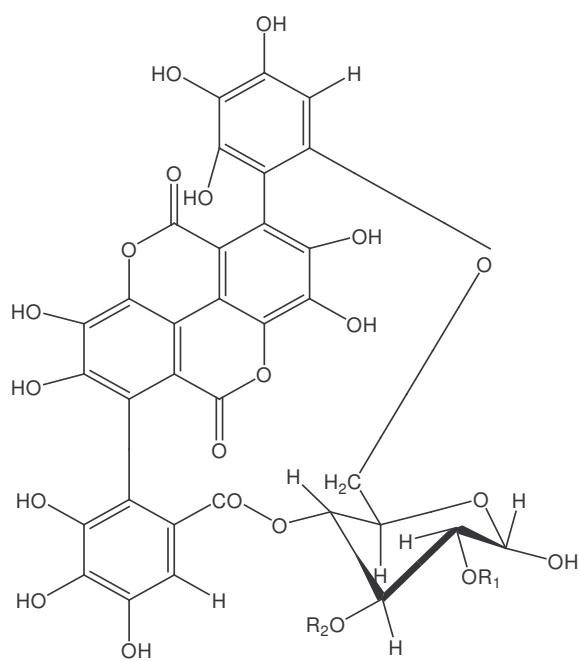
(Traoré, 1999 ; Akino et *al.*, 1994)



Combretastatine A

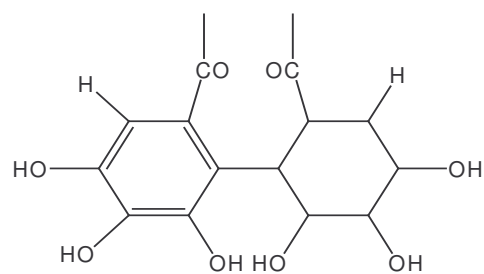


Combretastatine B

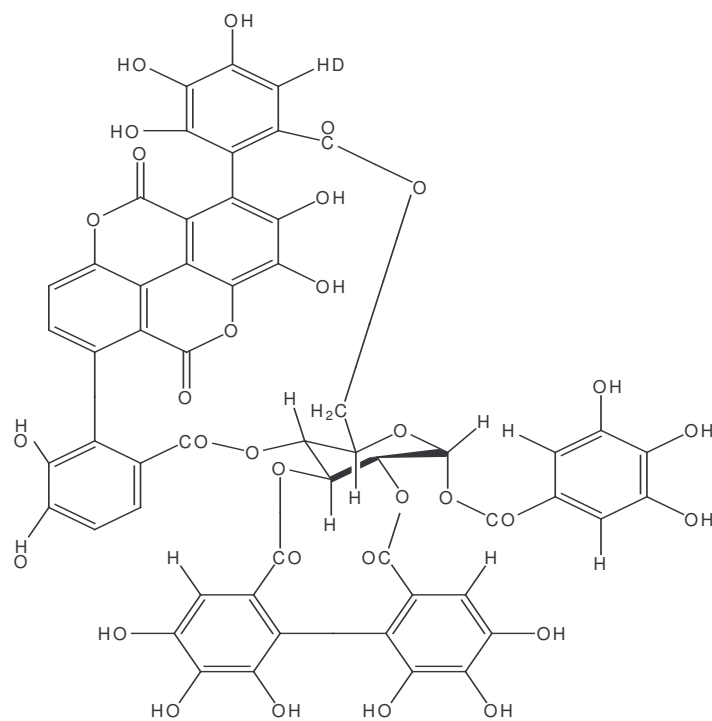


$R_1 = R_2 = H$: Punicaline

$R_1 = R_2 =$



Punicalgine



Combreglutine

2.1.11 : Données pharmacologiques et toxicologiques

Une étude clinique portant sur les différentes indications thérapeutiques signalées a été réalisée par le Blatt. L'expérimentation réalisée avec le décocté aqueux de feuilles (cinq feuilles pour un litre d'eau) a mis en évidence une action intéressante comme diurétique et hypotenseur d'appoint (Enda.sn, 2003) De plus, une observation a été faite dans un cas de lithiase rénale et une autre dans un cas d'ictère par hépatite (Kerharo et Adam, 1974).

Par ailleurs, il a été rapporté que les extraits chloroformiques et méthanoliques des feuilles et des tiges ont inhibé la croissance de *Bacillus substilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Par contre, l'extrait aqueux a été inactif (Keita, 2002).

. Par ailleurs, une expérimentation réalisée chez la souris a vérifié l'activité antitussive et antispasmodique (Pousset, 2004).

L'espèce *Combretum glutinosum* est peu toxique. L'expérimentation toxicologique réalisée à Dakar par Daffé (Enda.sn, 2003 a montré une toxicité quasi nulle (Enda.sn, 2003).

2.2 : Les antioxydants

2.2.1 : Généralités :

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

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

Indispensable à la vie, l'oxygène est une source d'agression à laquelle sont soumis tous les êtres vivants. En effet, sous l'action des rayons UV, des radiations ionisantes, de nombreux métaux de transition et au cours de diverses réactions enzymatiques, des formes hautement réactives de l'oxygène apparaissent telles que l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , les peroxydes alkyles ROOH et les radicaux hydroxyles OH, peroxyles ROO, et alkoyles RO. On les désigne souvent comme espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (les macrophages) pour combattre les agents infectieux tels que les bactéries et les virus. Toutefois, les bienfaits de ces composés hautement toxiques ne restent pas sans conséquence principalement pour les structures biologiques des cellules (protéines, lipides, ADN). De nombreuses pathologies parmi lesquelles l'athérosclérose, l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, le mongolisme et la neurodégénérescence sont en partie, liées à l'action de ces formes réactives de l'oxygène (Bossokpi, 2002).

On appelle radical libre une molécule contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Bien que le terme radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres. Les radicaux libres sont cependant une cible privilégiée pour améliorer les thérapeutiques à différents stades pathologiques.

2.2.2 : Définition d'un antioxydant

Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant. Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo*. Ainsi, lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont générées *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Il s'agit principalement d'enzymes : la superoxydase dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique.

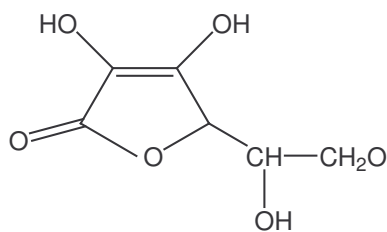
En plus de ces substances propres à l'organisme, les médicaments et l'alimentation peuvent être également d'autres sources d'antioxydants.

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

Actuellement, plusieurs thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéiniques, les antihypertenseurs, ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes. Citons entre autres exemples :

- **Le probucol** (lurselle) : est un médicament qui, en plus de ces effets connus dans la baisse du taux de cholestérol sanguin, prévient l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL).

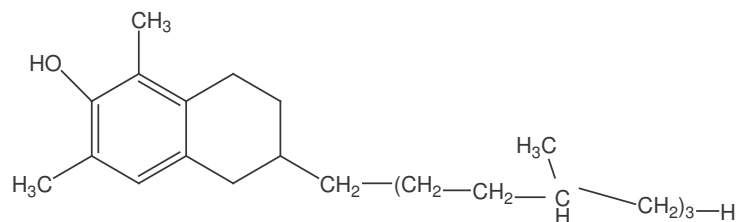
- **L'acide ascorbique** : Vitamine C : est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. On retrouve la vitamine C principalement dans les aliments suivants : les légumes, le poivron, le persil, les agrumes et la kiwi (Bossokpi, 2002).



Acide ascorbique

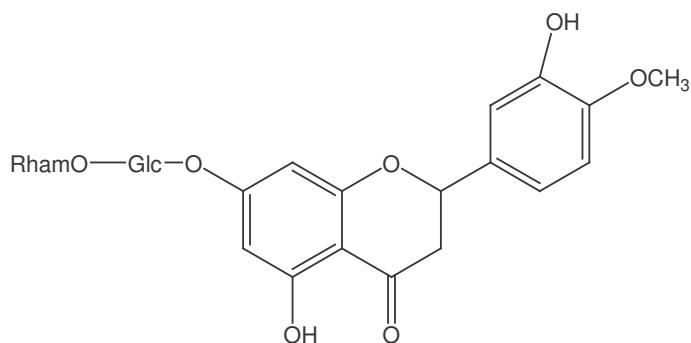
- **Le tocophérol** : Vitamine E : prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales telles que les

huiles d'*Arachis hypogaeae* L. (Fabaceae), ainsi que les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs, et les légumes à feuilles vertes.



Tocophérol ou Vitamine E

- **La vitamine P** (citrine, bioflavoridine et naringine, rutine, hespéridine) : La vitamine P intervient dans l'insuffisance veineuse par une diminution de la perméabilité et une augmentation de la résistance des capillaires. Elle agit par inhibition de la formation et de la libération de l'histamine ; l'oxydation de l'adrénaline serait également empêchée. L'activité antiradicalaire de la vitamine P serait due à l'entité catéchole qui est un très bon capteur de radicaux libres Elle est retrouvée dans le foie, la viande (volaille), le poisson, les fruits et légumes secs, les céréales (Chevaley, 2000).



Vitamine P

2.2.3 : **Les antioxydants naturels**

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

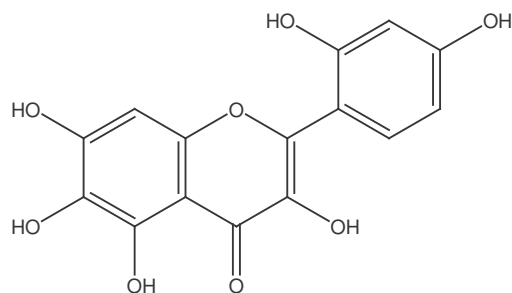
Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont pour la plupart des composés polyphénoliques. Un composé polyphénolique est tout composé possédant un noyau aromatique contenant un ou plusieurs substituants hydroxyles, incluant différents groupes fonctionnels dérivés (esters, glycosides, etc.). Ils sont répandus parmi les plantes alimentaires et sont régulièrement consommés par un grand nombre de personnes. Parmi ces composés, les flavonoïdes représentent la classe de substances la plus étudiée (Bossokpi, 2002). Il faut également mentionner d'autres classes de substances antioxydantes telles que les tanins, les xanthonés, les coumarines, les carotènes, les lignanes.

2.2.3.1 : Les flavonoïdes

Ce sont des pigments quasi universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles (Bruneton, 1993).

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans le système de défense. Ils sont largement présents dans les fruits, les légumes, le thé et le vin. Les flavonoïdes peuvent fonctionner soit comme chélateurs de métaux (quercétine), soit capteurs de radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoyles et peroxydes (Madhavi et *al*, 1996).

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

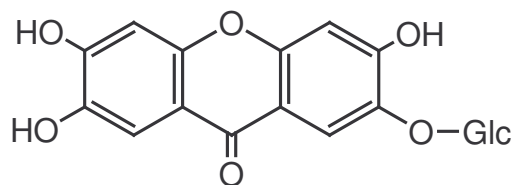


Morine

2.2.3.2 : Les xanthonés

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthonés sont l'inhibition de la monoamine oxydase, leur activité antimicrobienne, et leur cytotoxicité (Hostettmann, 1989).

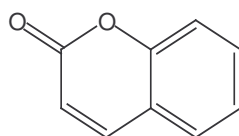
La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteur de radicaux libres contre les anions superoxydes (Anderson et al, 1996).



Manguiférine

2.2.3.3 : Les coumarines

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



Coumarine

2.2.3.4 : Les caroténoïdes

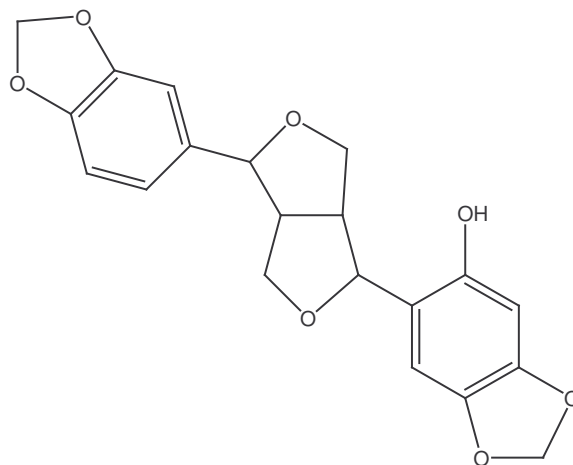
Les caroténoïdes sont des constituants membranaires des chloroplastes et forment un groupe de pigments liposolubles. Ils contribuent à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. Ils sont souvent retrouvés dans les plantes alimentaires.

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

2.2.3.5 : Les lignanes

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leur activité antioxydante 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.

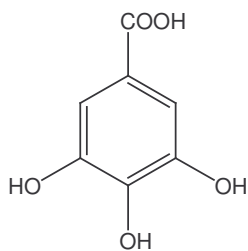


Sésaminol

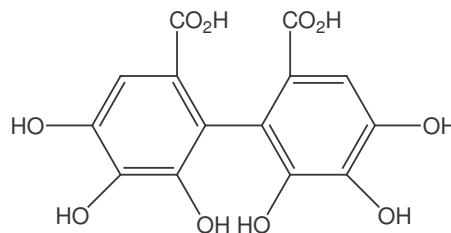
2.2.3.6 : Les tanins

Les tanins sont des composés poly phénoliques ayant la propriété de transformer la peau en matériau imputrescible : le cuir. Les tanins sont des composés présentant des propriétés antioxydantes significatives. On les classe en deux grands groupes chez les végétaux :

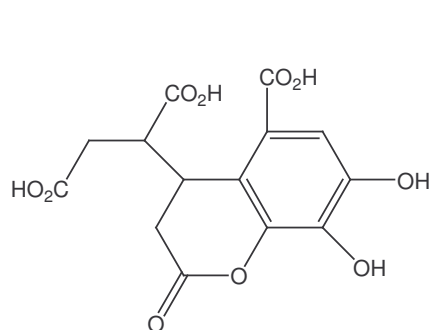
Les tanins hydrosolubles : sont des esters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est soit l'acide gallique, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation : déshydrohexadiphénique, acide chébulique (tanins ellagiques ou ellagitanins) ;



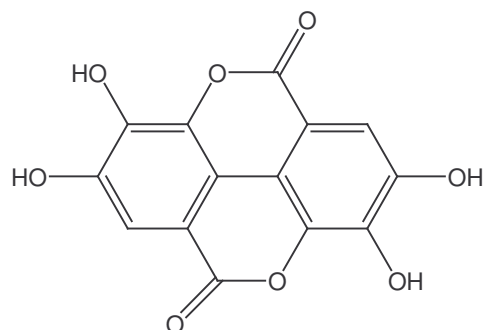
Acide gallique



Acide (S) – hexahydroxydiphénique

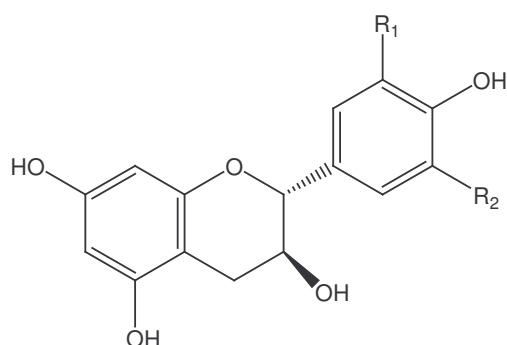


Acide chébulique



Acide ellagique

Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavoniques. Ils ont été isolés ou identifiés de tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères compris (Madhavi et *al*, 1996 : Traoré, 1999).

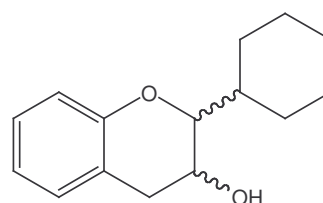


Série 2-R, 3-S :

R1 = R2 = H : Afzeléchol ;

R1 = OH, R2 = H: Catéchol ;

R1 = R2 = OH : Gallocatéchol



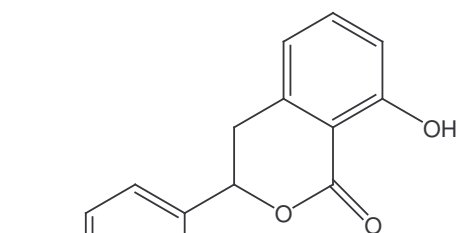
Flavon - ol

2.2.3.7 : Les stilbénoides

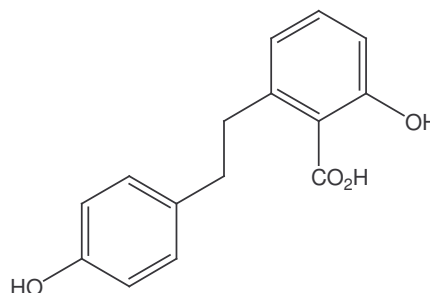
Les stilbénoides sont des composés phénoliques qui possèdent deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène, c'est à dire les dibenzyls et les stilbènes, ainsi que les produits qui leur sont biosynthétiquement rattachés : phénanthrène ; 9,10- diphénanthrène ; phényl dihydroisocoumarines.

Les stilbènes, généralement E, peuvent être libres ou hétérosidiques, parfois polymériques. Ils sont présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs.

Ces composés sont présents chez toutes les espèces du genre *Combretum* (Traoré, 1999).



Hydrangénol



Acide lunularique

2.2.4 : Méthodes de tests antioxydants

2.2.4.1 : Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome

Principe :

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

2.2.4.2 : Réduction du radical 1,1'diphényl-2 picrylhydrazyle (DPPH)

Test sur CCM :

Principe :

Il s'agit de déposer des extraits, fractions ou produits purs à tester sur des plaques CCM de gel de silice GF₂₅₄ en aluminium et développées dans des systèmes de solvants appropriés.

Après séchage, révéler les plaques CCM avec une solution méthanolique à 2 mg/ml. Des activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur un fond violet (Cavin, 1999).

Nous avons utilisé ce test dans notre méthodologie pour rechercher l'activité antioxydante de nos extraits.

2.2.4.3 : Test mesurant l'activité antioxydante au moyen des caroténoïdes**Test sur CCM :****Principe :**

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

2.2.5 : Quelques plantes à activité antioxydante reconnue (Keita, 2002)**Tableau II : QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTIOXYDANTE IDENTIFIEES AU MALI**

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Entada africana</i> Guill. et Perr.	<i>Mimosaceae</i>	Racines
<i>Diospyros abyssinica</i> (Hiern) F. White	<i>Ebenaceae</i>	Feuilles
<i>Psorospermum guineense</i> Hochr	<i>Hypericaceae</i>	Feuilles
<i>Burkea africana</i> Hook	<i>Ceasalpinaceae</i>	Ecorces du tronc
<i>Cussonia barteri</i> Seenm	<i>Araliaceae</i>	Racines
<i>Lannea velutina</i> Rich	<i>Anacardiaceae</i>	Feuilles, écorces de racines

2.3 : Les antifongiques

2.3.1 : Généralités

La pathologie fongique a connu une progression au cours de ces dernières années, compte tenu de l'augmentation des localisations mycosiques profondes, viscérales et septicémiques. Les premières sont dues à des champignons très répandus dans la nature, habituellement saprophytes, ne devenant pathogènes que dans certaines conditions : usage croissant des antibiotiques à large spectre ; corticothérapie ; thérapeutiques immunosuppressives. Chez les sujets infectés par le SIDA, on parle de mycoses iatrogènes. Elles sont causées par des champignons dits opportunistes qui sont soit lévuriformes (*Candida*, *Cryptococcus*), soit filamenteux (*Aspergillus*, *Cephalosporum*).

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

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

2.3.2 : Classification des mycoses

2.3.2.1 : Mycoses exclusivement superficielles

Ce sont les mycoses à tropisme exclusivement cutané. On distingue les dermatophytoses :
de la peau glabre : herpes circiné ;
des plis (intertrigos) : eczéma marginé de Hebra (face intérieure des cuisses) ; pied d'athlète
des zones pilieuses : sycosis (barbe) ;

des ongles : onyxis ou onychomycoses.

2.3.2.2 : Mycoses cutanéomuqueuses

Elles sont essentiellement causées par les espèces du genre *Candida*. On distingue :
des candidoses oropharyngées et digestives : les atteintes buccales sont les plus importantes ; elles se traduisent par un muguet souvent associé à une glossite ;
des candidoses génitales : il s'agit de balanite chez l'homme et de vulvo-vaginite chez la femme. Les facteurs favorisants sont nombreux : diabète, grossesse, contraception orale ;
des candidoses cutanées : chaleur et macération sont les conditions favorables à l'extension cutanée de ces mycoses.

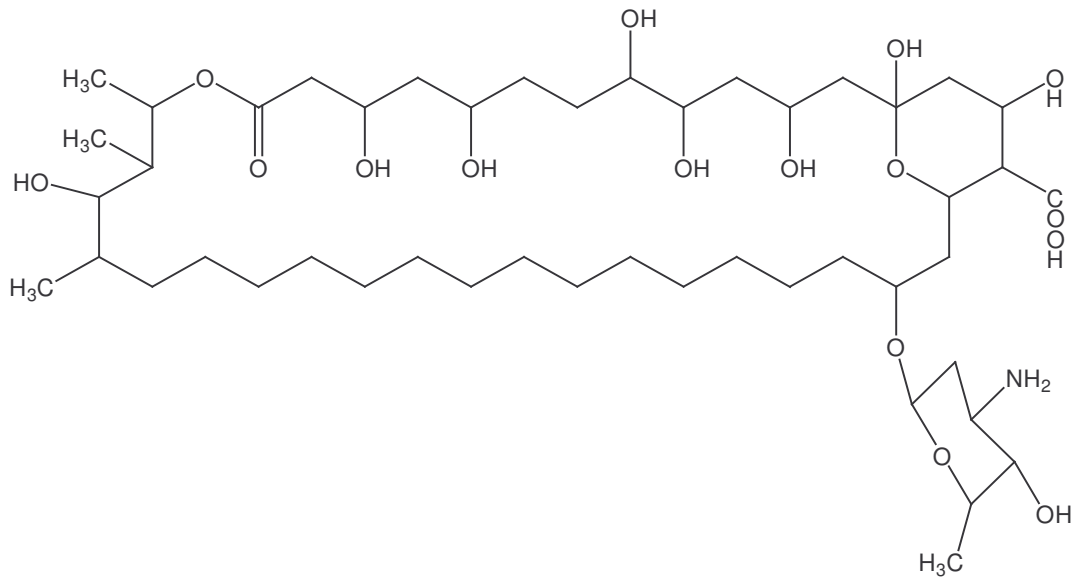
2.3.2.3 : Mycoses profondes

Trois grands groupes de mycoses profondes peuvent être distingués :
- les candidoses disséminées : l'agent responsable est *Candida albicans*. Les localisations sont nombreuses : oculaire, ostéoarticulaire, cardiaque, urinaire, cérébrale ou septicémique ;
- les aspergilloses : le champignon responsable est *Aspergillus fumigatus* qui possède des spores aériennes pouvant être inhalées ;
- les cryptococcoses : l'agent causal est *Cryptococcus neoformans*. La dissémination se fait à partir du foyer pulmonaire, par voie hématogène et aboutit à un envahissement méningé : la cryptococcose neuroméningée.

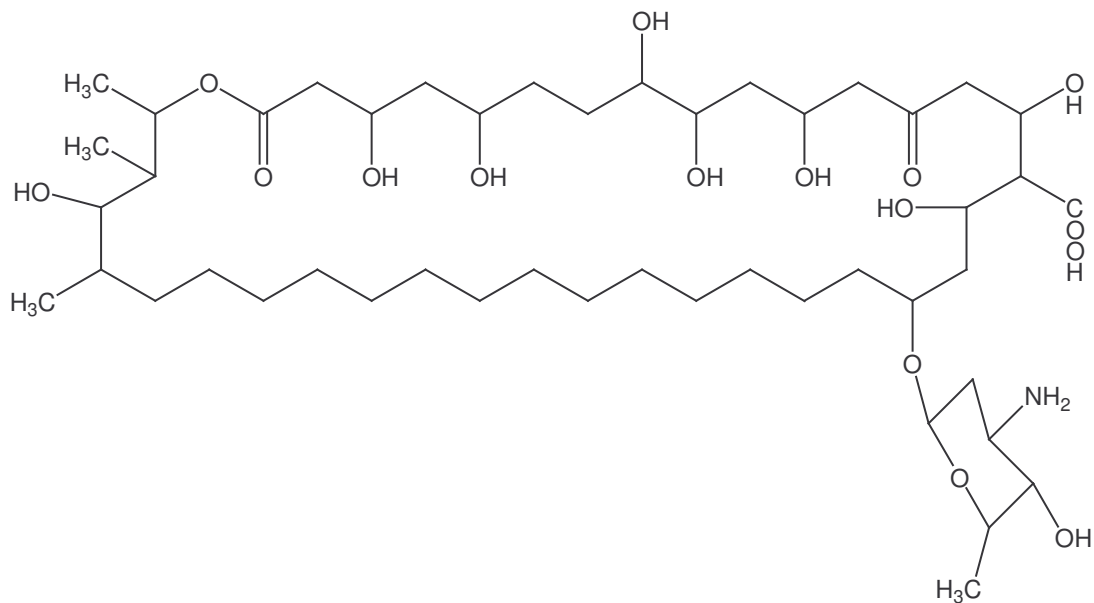
2.3.3 : Les médicaments antifongiques conventionnels

2.3.3.1 : La nystatine et l'amphotéricine B

Ces deux molécules possèdent le même sucre amine : la nycosamine qui est liée à un long cycle lactone contenant des groupements polyéniques.



Amphotéricine B (Fungizone®)



Nystatine (Mycostatine®)

► **Mode d'action**

Les polyènes ont à la fois une activité fongicide et fongistatique.

A pH acide, la nystatine et l'amphotéricine B sont plus rapidement absorbées en grande quantité par les levures qu'à pH neutre ou alcalin. Le mode d'action relève de divers mécanismes dont la

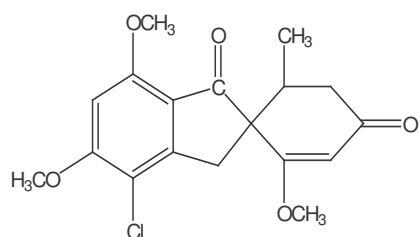
formation de complexes insolubles avec les stérols de la membrane cellulaire aboutissant à des troubles de la perméabilité cellulaire et entraînant la mort des cellules.

2.3.3.2 : La griséofulvine (Griséofuline®)

► Mode d'action

Elle inhibe à des doses fongicides la synthèse des acides nucléiques. Elle affecte la mitose cellulaire (arrêt de la métaphase).

Son action fongistatique est responsable de l'altération de la paroi fongique s'accompagnant d'anomalies de développement des hyphes terminaux qui s'élargissent, s'épaississent et s'enroulent.

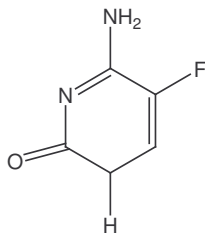


Griséofulvine (Griséofuline®)

2.3.3.3: La flucytosine

► Mode d'action

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

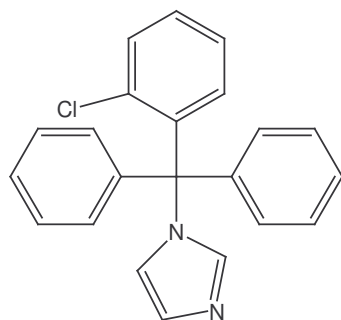


Flucytosine (Ancotil®)

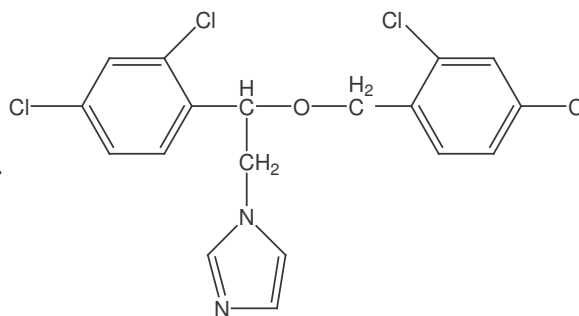
2.3.3.4 : Les dérivés imidazolés

► Mode d'action

Ils altèrent la structure de la paroi fongique avec blocage de stéroïdes et inhibition de la synthèse des protéines.



Cotrimazole



Miconazole

2.3.4 : Méthodes des tests antifongiques

2.3.4.1 : Méthodes de diffusion

Principe

Détermination de l'activité antifongique d'un extrait sur un milieu de culture à travers des cylindres ou des disques contenant les solutions à titrer. Il se forme des zones circulaires sur le fond opaque du milieu de culture (Chevalely, 2000).

2.3.4.2 : Méthode bio autographique

Principe

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

C'est cette méthode que nous avons utilisée dans notre méthodologie pour déterminer l'activité antifongique de nos extraits.

2.3.5 : Quelques plantes à activité antifongiques**Tableau III:** PLANTES A ACTIVITE ANTIFONGIQUE (Diallo, 2000)

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Diospyros abyssinica</i> Hiern	<i>Ebenaceae</i>	Racines
<i>Glinus oppositifolius</i> L. ADC	<i>Aizoaceae</i>	Parties aériennes
<i>Parkia biglobosa</i> K.	<i>Mimosaceae</i>	Ecorce du tronc
<i>Swartzia madagascariensis</i> D.	<i>Leguminosae</i>	Racines
<i>Ximenia americana</i> Min.	<i>Oleraceae</i>	Racines

2.4 : Les infections bactériennes

2.4.1 : Rappel sur les bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal.

Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule.

Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

Les bactéries se reproduisent selon deux modes :

- la division simple ou scissiparité ;
- la sporulation, la spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico-chimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture.

2.4.2 : Exemple de classification des bactéries d'intérêt médical

2.4.2.1 : Bactéries en forme de sphère : les cocci

2.4.2.1.1 : Coccies Gram positif

Nous avons les genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pneumococcus*, *Enterococcus*.

2.4.2.1.2 : Coccies Gram négatif

Nous avons le genre *Neisseria*.

2.4.2.2 : Bactéries en forme de bâtonnet : les bacilles

2.4.2.2.1 : Bacilles Gram positif

Nous avons les genres *Listeria*, *Erysipelothria*, *Bacillus*, *Cynetobacter*, *Actinomyces*.

2.4.2.2.2 : Bacilles Gram négatif

Nous avons les genres *Enterobacter*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Francisella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vibrion*, *Campylobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*.

2.4.2.2.3 : Bacilles acido-alcoolo résistants (BAAR)

Ici, nous retrouvons le bacille de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) et celui de la lèpre (*Mycobacterium leprae*).

2.4.2.3 : Bactéries en forme de spirale : les spirochètes

Nous avons les genres *Treponema*, *Leptospira*, *Borrella*, *Spirillum*.

2.4.2.4 : Flore bactérienne anaérobie

2.4.2.4.1 : Gram positif

Nous avons les genres *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionobacterium*, *Bifidobacterium*.

2.4.2.4.2 : Gram négatif

Nous avons les genres *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*.

2.4.3 : Les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme.

Elle peut être :

- locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré ;
- générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme ;
- focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine.

2.4.4 : Traitement des infections bactériennes par les antibiotiques

Un antibiotique est un composé chimique élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à

faible dose, d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains êtres pluricellulaires.

2.4.4.1 : Mécanisme d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur les micro-organismes selon plusieurs mécanismes dont certains sont connus :

- action sur la paroi bactérienne : la synthèse des mucopeptides de la paroi bactérienne est perturbée par l'inhibition de certains enzymes : peptido-glycane synthétase, transpeptidase.

Les β -lactamines, la cyclosérine, la bacitracine, la vancomycine, la fosfomycine, agissent par ce mécanisme, de préférence sur les bactéries jeunes dont la paroi est en cours d'édification. Les bactéries Gram positif dont la paroi est riche en mucopeptides sont les plus sensibles ;

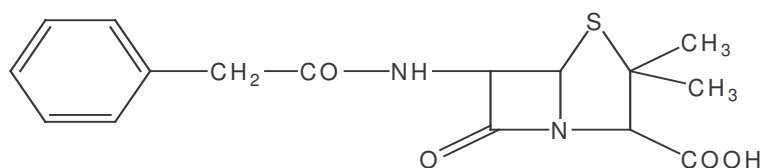
- action sur la membrane cytoplasmique et la membrane extérieure des bactéries Gram négatif : certains antibiotiques se fixent sur les phospholipides de la membrane cytoplasmique, entraînant une altération de la perméabilité de cette membrane. Ils opèrent comme des agents tensioactifs cationiques. Les constituants cellulaires s'échappent du cytoplasme bactérien, ce qui provoque la mort cellulaire. La gramicidine et la tyrocidine agissent par ce mécanisme ;

- action sur la réplication de l'ADN : certains antibiotiques perturbent la réplication de l'ADN. Il s'agit des quinoléines ;

- action sur la traduction de l'ARN m : l'ARN m et l'ARN t sont les cibles des antibiotiques et les mécanismes de traduction de l'ARN m sont troublés. Certains antibiotiques se fixent sur la sous unité ribosomale 30 S, d'autres interviennent de diverses manières sur la sous unité ribosomale 50 S. Nous retrouvons ici les aminosides, les macrolides, les lincosamides, les streptogramines, les cyclines, les phénicolés, l'acide fusidique.

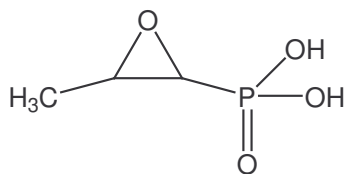
2.4.4.2 : Structure de quelques antibiotiques antibactériens

2.4.4.2.1. Les β -lactamines



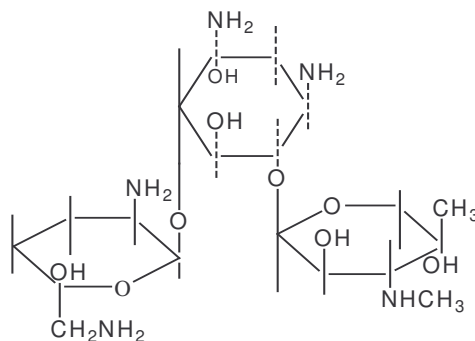
Pénicilline G

2.4.4.2.2 : Les fosfomycines



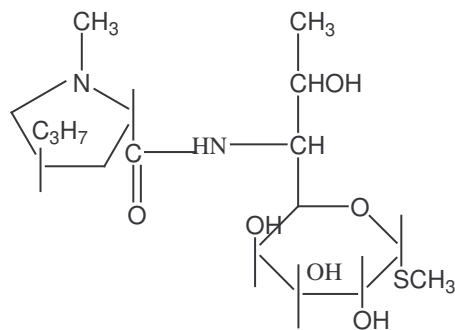
Fosfomycine

2.4.4.2.3: Les aminosides



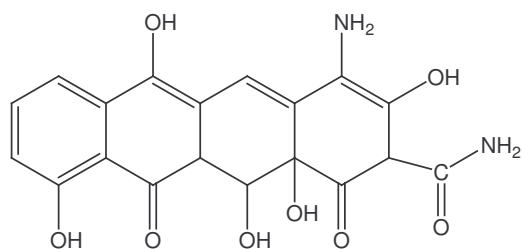
Gentamicine

2.4.4.2.4 : Les macrolides – lincosamides – Synergistines (MLS)



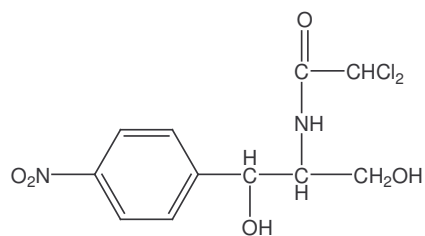
Lincomycine

2.4.4.2.5: Les tétracyclines



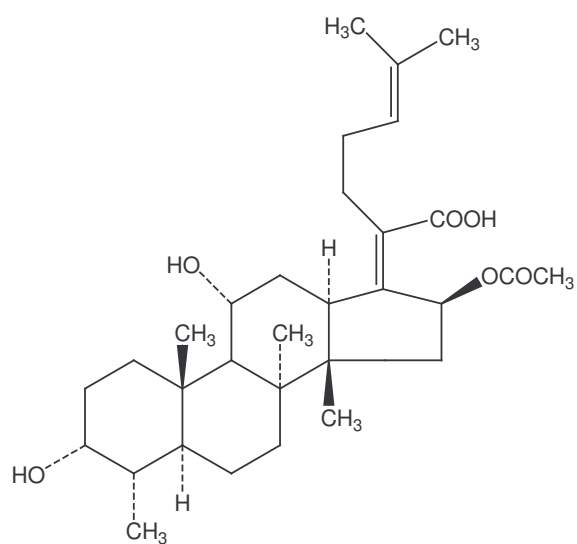
Tétracycline

2.4.4.2.6 : Les phénicolés



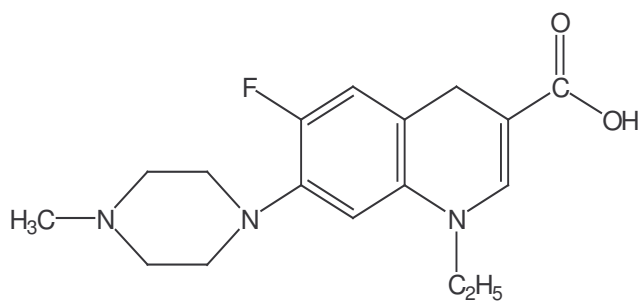
Chloramphénicol

2.4.4.2.7: L'acide fusidique



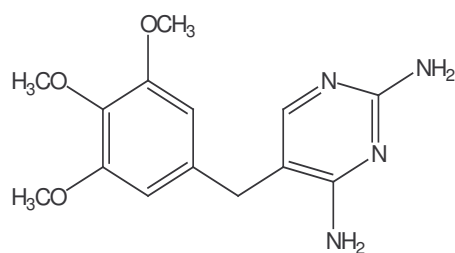
Acide fusidique

2.4.4.2.8 : Les quinolones



Péfloxacine

2.4.4.2.9 : Les inhibiteurs de la synthèse des folates



Triméthoprim

2.4.5 : Sensibilité et résistance aux antibiotiques

Il existe la sensibilité du germe *in vitro* et celle *in vivo*. Certains antibiotiques ont une pharmacocinétique ne leur permettant pas d'atteindre les germes dans les foyers infectieux de certains organes ou tissus. Il est donc nécessaire de s'informer sur les mécanismes de résorption, de diffusion, de transformation et d'élimination des antibiotiques dans l'organisme de l'hôte. Peu d'antibiotiques sont capables de traverser la barrière hémoméningée et donc d'être utiles dans le traitement des méningites.

En recherchant les germes sensibles, il est possible d'établir le spectre d'activité de l'antibiotique. La résistance aux antibiotiques peut être spontanée ou acquise.

La résistance acquise peut être limitée à un seul antibiotique ou concerner plusieurs d'entre eux (résistance croisée). La résistance est dite croisée pour une famille d'antibiotiques.

La résistance acquise survient en général par mutation chromosomique ou par transfert extrachromosomique (résistance plasmidique).

Notons enfin que les antibiotiques occupent en ville comme à l'hôpital, une place prépondérante, non seulement dans les dépenses en médicaments, mais surtout dans l'arsenal thérapeutique.

De cet intérêt découle une recherche scientifique importante qui conduit aujourd'hui à l'expérimentation et à la commercialisation de nouvelles molécules.

Pour une économie de santé et une bonne prise en charge des infections bactériennes, le prescripteur et le pharmacien doivent veiller à ce que les antibiotiques soient utilisés à bon escient afin d'éviter l'apparition rapide de résistances, ainsi que les maladies nosocomiales.

2.4.6 : Quelques plantes à activité antibactérienne**Tableau IV** : QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTIBACTERIENNE (Ekoumou, 2003)

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Allium sativum</i> (L). Gaertn	<i>Liliaceae</i>	Bulbes
<i>Aloe vera</i> (L). Burn. F	<i>Liliaceae</i>	Feuilles
<i>Carica papaya</i> L.	<i>Caricaceae</i>	Feuilles
<i>Mangifera indica</i> L.	<i>Anacardiaceae</i>	Feuilles
<i>Tamarindus indica</i> L.	<i>Leguminoseae</i>	Fruits
<i>Psidium guajava</i> L.	<i>Myrtaceae</i>	Feuilles

2.5 : Les anti-inflammatoires

2.5.1 : Définition de l'inflammation

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

L'inflammation peut être aussi définie comme un processus général réactionnel de tout ou partie de l'organisme à une agression, qu'elle soit chimique, physique, bactérienne, virale ou parasitaire.

Elle peut être aiguë ou chronique. Ce processus de défense de l'organisme peut parfois évoluer de façon anormale et déclencher des maladies auxquelles sont opposées des médicaments dits anti-inflammatoires pouvant être conventionnels ou traditionnels.

L'inflammation ainsi définie se déroule en trois phases :

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

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

Beaucoup d'éléments cellulaires interviennent dans l'inflammation :

- les polynucléaires neutrophiles ;
- les polynucléaires éosinophiles ;
- les lymphocytes ;
- les plasmocytes.

2.5.2 : Effets locaux et généraux de l'inflammation

Un foyer inflammatoire, même localisé, est susceptible d'avoir une répercussion sur l'ensemble de l'organisme. Lorsqu'il y a inflammation, surtout s'il s'agit d'une réaction liée à un processus

infectieux, le taux de leucocytes sanguins augmente. Ce phénomène est dû au déversement dans le sang des leucocytes jeunes de la moelle et à une accélération de la maturation des myélocytes médullaires. Il en résulte une augmentation du taux des polynucléaires jeunes aux noyaux peu segmentés dans le sang.

Les mécanismes réglant les modifications des leucocytes sanguins ne sont que partiellement connus. En effet, la majorité des infections s'accompagnent d'une augmentation du taux des leucocytes ; il y'a néanmoins des cas où le taux de leucocytes sanguins diminue (leucopénie) : c'est ce que l'on observe dans la fièvre typhoïde.

2.5.3 : Les anti-inflammatoires conventionnels

2.5.3.1 : Historique

Dès l'époque d'Hippocrate, il y'a environ 2400 ans, les propriétés analgésiques et anti-inflammatoires de divers extraits végétaux contenant des salicylés étaient connues et mises à profit chez l'homme. En particulier, étaient utilisées des préparations à partir de la saule (*Salix alba* L.; *Salicaceae*). L'isolement de l'acide salicylique et l'approfondissement des connaissances pharmacologiques sur les salicylés datent du 19^{ème} siècle.

Le développement commercial des salicylés devient important avec la synthèse chimique, par Felix Hoffmann en 1899, sous le nom de l'acide acétylsalicylique (Aspirine®).

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

En effet, en 1949, les propriétés anti-inflammatoires de la cortisone étaient établies, stimulant ainsi la recherche d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

2.5.3.2 : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont définis comme étant la classe de médicaments qui possèdent les mêmes propriétés pharmacologiques que l'acide acétylsalicylique (Aspirine®) : analgésique, antipyrétique, anti-inflammatoire.

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

► **Mécanisme d'action**

Les AINS inhibent principalement le métabolisme de l'acide arachidonique par la voie de la cyclo-oxygénase. Cependant d'autres effets doivent être évoqués, en particulier la diminution, de la migration cellulaire, du métabolisme oxydatif, ainsi que des actions sur divers constituants du tissu conjonctif (protéoglycane, glycoprotéine, collagène).

► **Interactions médicamenteuses**

Déplacement des anticoagulants de leurs liaisons protéiques ; antagonisme des diurétiques et antihypertenseurs ; augmentation de la toxicité sanguine du lithium et du méthotrèxate ; potentialisation des effets des sulfamides hypoglycémiants.

► **Effets secondaires**

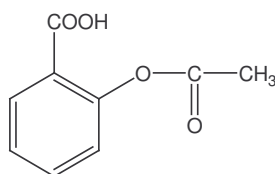
Toxicité gastro-intestinale ; effets rénaux ; action anti-agrégante plaquettaire ; retard à l'accouchement ; asthme induit ; réaction allergique.

► **Contre-indications**

Allergie connue aux AINS ; traitement anticoagulant ; ulcère gastro-duodéal ; grossesse et allaitement ; insuffisance rénale ou hépatique.

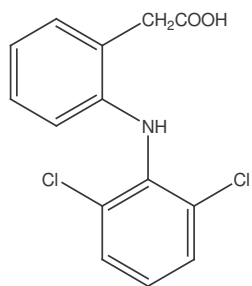
► **Structures de quelques AINS**

► **Dérivé salicylé :**

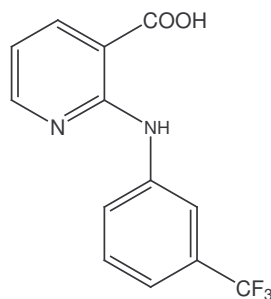


Acide acétylsalicylique (Aspirine®)

► **Acide fénamique :**



Diclofenac (Voltarène®)



Acide niflumique (Nifluril®)

2.5.3.3 : Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS ou glucocorticoïdes sont des médicaments utilisés contre l'inflammation, dérivés d'hormones naturelles sécrétées par le cortex surrénale ou hémisynthétisés à partir d'extraits animaux ou végétaux

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

L'on sait maintenant mieux apprécier les risques de cette thérapie et l'on possède des composés plus actifs et moins dangereux (Coyen, 1981).

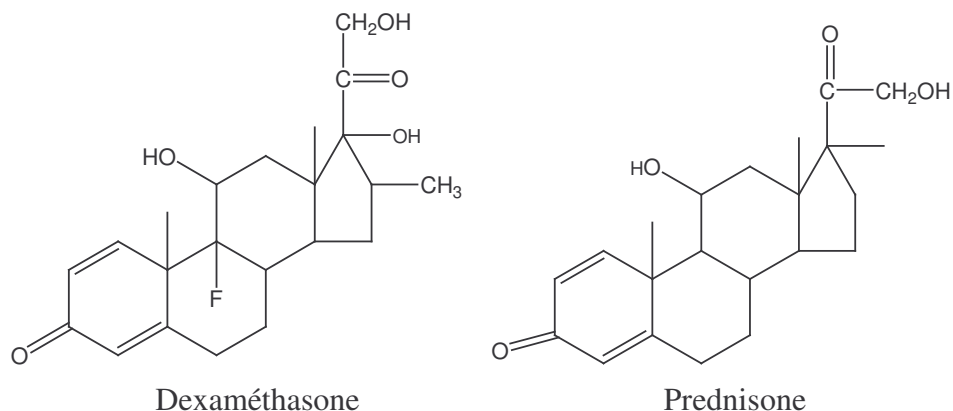
► Mécanisme d'action des AIS

Les glucocorticoïdes sont utilisés soit à titre substitutif pour suppléer une défense surrénalienne, soit à dose pharmacologique où les propriétés anti-inflammatoires immunosuppressives sont recherchées. Les glucocorticoïdes sont des stéroïdes et comme toutes les molécules de cette famille, ils agissent en se liant à des récepteurs ou en partie à l'albumine. La présence d'un hydroxyle en fonction 11 β est essentielle pour l'activité glucocorticoïde. Les glucocorticoïdes sont peu solubles dans l'eau. Ils inhibent fortement la réaction inflammatoire précoce et ses manifestations cliniques connues d'où leur grand succès en thérapeutique (Neuwinger, 1996).

► Effets secondaires des AIS

Troubles métaboliques (métabolisme hydro-électrolytique, métabolisme des lipides, des glucides, des protides) ; troubles digestifs : ulcère gastro-duodéal ; sensibilité aux infections.

► Structures de quelques AIS :



2.5.4: Méthodes de tests anti-inflammatoires

► Œdème à la carraghénine sur rats surrénalectomisés

Principe

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

► Œdème par traumatisme expérimental selon Riester et Jaques

Principe

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

► Tourniquets poditifs

Principe

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

► Abcès à la carraghénine

Principe

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

C'est cette technique que nous avons utilisée dans notre méthodologie pour tester l'activité anti-inflammatoire de nos extraits.

► Arthrite de Freud

Principe

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

► Technique de l'effusion pleurale

Principe

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

► **L'inflammation locale de l'oreille du rat**

Principe

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

2.5.5 : Quelques plantes à activité anti-inflammatoires (Bossokpi, 2002)

Tableau V: QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Annona senegalensis</i> Pers.	<i>Annonaceae</i>	Racines et Feuilles
<i>Cola nitida</i> (Vent), Shlott.	<i>Sterculiaceae</i>	Coques
<i>Biophytum petersianum</i> Klotz	<i>Oxililidaceae</i>	Plante entière
<i>Combretum nigricans</i> Lepr.	<i>Combretaceae</i>	Feuilles
<i>Datura inoxia</i> Mill	<i>Solanaceae</i>	Feuilles
<i>Securidaca longepedunculata</i> Fres.	<i>Polygalaceae</i>	Racines
<i>Tamarindus indica</i> L.	<i>Ceasalpinaceae</i>	Rameaux feuillés

2.6 : Le paludisme

Encore appelé malaria, le paludisme est une affection parasitaire due à l'action pathogène d'un protozoaire hématozoaire du genre *Plasmodium*.

2.6.1 : Données statistiques et épidémiologiques (Institut Pasteur, 2004)

Le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes en Afrique et entre 1 et 3 millions de personnes par an, selon les estimations de l'OMS. Deux milliards d'individus, soit 40% de la population mondiale, sont exposés et on estime à 500 millions le nombre de cas cliniques survenant chaque année. Les moyens de lutte existants sont les médicaments antipaludéens (dont les plus connus sont la chloroquine ou la quinine, l'artémisinine et ses dérivés) et la lutte contre les moustiques vecteurs du parasite *Plasmodium*. Mais la situation est d'autant plus préoccupante que depuis plusieurs années, les parasites développent de plus en plus de résistances aux médicaments, et que les moustiques développent des résistances aux insecticides.

Le paludisme touche une centaine de pays dans le monde, particulièrement les zones tropicales défavorisées d'Afrique, d'Asie et d'Amérique Latine. L'Afrique est, de loin, le continent le plus touché avec 90% des cas de paludisme recensés dans ses zones tropicales. Des épidémies peuvent survenir lors de mouvements de populations peu exposées au paludisme vers des zones hautement endémiques.

Quatre espèces de parasites du genre *Plasmodium* sont responsables de la maladie chez l'homme :

- *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus pathogène et responsable des cas mortels. Elle est présente dans les zones tropicales d'Afrique, d'Amérique Latine et d'Asie, et elle est dominante en Afrique ;
- *Plasmodium vivax* co-existe avec *P. falciparum* dans de nombreuses parties du monde, et est présente dans certaines régions tempérées ;
- *Plasmodium ovale*, principalement trouvée en Afrique de l'ouest, ne tue pas mais peut entraîner des rechutes 4 à 5 ans après la primo infection ;
- *Plasmodium malariae* a une distribution mondiale mais très inégale. Elle n'est pas meurtrière mais peut entraîner des rechutes jusqu'à 20 ans après la primo infection.

2.6.2 : Transmission

Le paludisme est transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique femelle, du genre *Anopheles*, elle-même infectée après avoir piqué un homme impaludé: la femelle, en prenant le repas de sang nécessaire à sa ponte, injecte le parasite à son hôte.

La transmission de *Plasmodium* d'un homme à un autre se fait donc par l'intermédiaire du moustique, le principal en cause étant *Anopheles gambiae*. Il existe un seul cas de contamination inter-humaine directe, lorsqu'une femme enceinte infectée contamine son enfant par voie transplacentaire.

2.6.3 : Cycle du parasite

Le cycle de *Plasmodium* est complexe et comporte deux étapes essentielles : un cycle asexué chez l'homme, et un cycle sexué chez le moustique.

L'anophèle femelle injecte à l'homme le parasite sous forme de "sporozoïte". Celui-ci migre rapidement, *via* la circulation sanguine, vers le foie. Il pénètre dans la cellule hépatique, où il se divise très activement pour donner naissance, en quelques jours, à des dizaines de milliers de nouveaux parasites : les "mérozoïtes". La cellule du foie éclate en libérant ces parasites dans le sang: là, ils pénètrent à l'intérieur des globules rouges et se multiplient. Lorsque ces derniers éclatent à leur tour, les mérozoïtes libérés dans la circulation sanguine infectent de nouveaux globules rouges.

A chaque cycle de réplication des mérozoïtes, des parasites sexués mâles et femelles (gamétocytes) sont formés à l'intérieur des globules rouges. Lorsqu'un moustique pique une personne infectée, il ingère ces gamétocytes, qui se transforment en gamètes. Leur fécondation engendre un zygote, qui se différencie en oocyste dans le tube digestif du moustique. Les oocystes produisent des sporozoïtes, qui migrent vers les glandes salivaires du moustique. Les rechutes tardives de paludisme observées lors d'infections par *P.vivax* et *P. ovale* sont dues à la possibilité pour ces espèces de subsister sous une forme latente ("hypnozoïte") dans la cellule hépatique de l'homme.

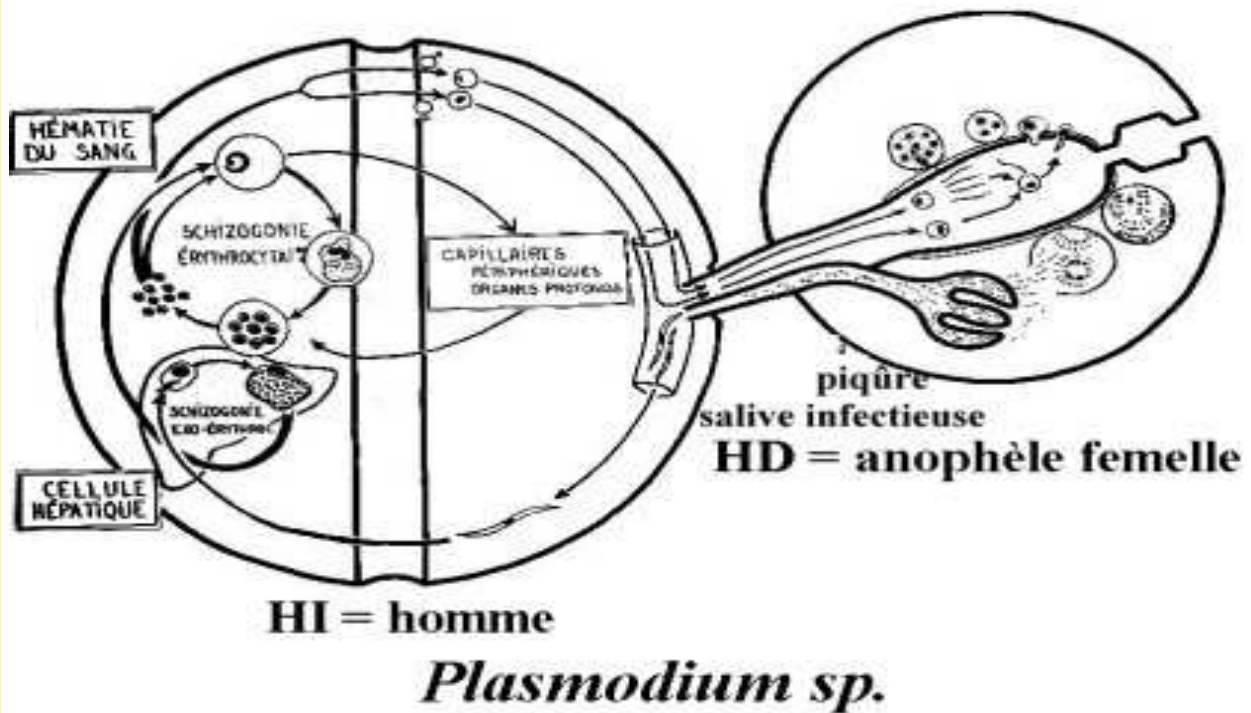


Figure n°2: SCHEMA DU CYCLE PARASITAIRE DE *Plasmodium falciparum* (Institut Pasteur, 2004)

2.6.4 : Symptomatologie

Les manifestations cliniques du paludisme sont très diverses. Le paludisme débute par une fièvre 8 à 30 jours après l'infection, qui peut s'accompagner - ou non - de maux de tête, de douleurs musculaires, d'un affaiblissement, de vomissements, de diarrhées, de toux. Des cycles typiques alternant fièvre, tremblements avec sueurs froides et transpiration intense, peuvent alors survenir : c'est " l'accès palustre". La périodicité de ces cycles dépend de l'espèce de parasite en cause, et coïncide avec la multiplication des parasites et l'éclatement des globules rouges, qui conduit également à l'anémie. Le paludisme à *P. falciparum* peut être fatal s'il n'est pas traité. Dans certains cas, les globules rouges infectés peuvent bloquer les vaisseaux sanguins irriguant le cerveau : c'est le neuropaludisme, souvent mortel. Dans les régions où le paludisme est hautement endémique, les personnes sont tellement souvent infectées qu'elles finissent par être

naturellement immunisées ("immunité acquise"), généralement après de nombreuses années d'infection chronique, et sont alors des porteurs plus ou moins asymptomatiques du parasite.

2.6.5 : Diagnostic biologique

Il est établi par l'examen microscopique d'une goutte de sang après coloration au may graw giemsa, qui colore le cytoplasme du parasite en bleu et son noyau en rouge.

2.6.6 : Prévention et traitements

Plusieurs molécules antipaludiques peuvent être utilisées en prophylaxie (prévention lors d'un voyage en zone endémique) ou en thérapeutique. Les plus connues sont la chloroquine ou la quinine. D'autres, comme la méfloquine, sont utilisées dans les régions où vivent des parasites chloroquinorésistants.

Il est dangereux de partir en zone de transmission intense de paludisme sans prise régulière d'un traitement préventif, en particulier pour les enfants et les femmes enceintes qui ont un risque accru d'accès grave. Le traitement préventif doit être prescrit par un médecin. Il tient compte des zones visitées (risque, existence ou non de résistance), de la durée du voyage et aussi de la personne : l'âge, les antécédents pathologiques, une intolérance aux antipaludéens, une possible interaction médicamenteuse, une grossesse.

Mais les médicaments anti-paludéens ne garantissent pas une protection absolue contre l'infection et il est aussi important de se protéger des piqûres de moustiques (moustiquaires, produits anti-moustiques). Aucun moyen préventif n'assure à lui seul une protection totale et, même si un traitement adapté a été bien pris, il est possible de faire une crise de paludisme, parfois d'apparition tardive. Les premiers symptômes sont souvent peu alarmants mais le paludisme peut être mortel si son traitement est retardé. Aussi, en cas de fièvre même légère, de nausées, de maux de tête, de courbatures ou de fatigue au cours du séjour ou dans les mois qui suivent le retour, un médecin doit être consulté en urgence. La prise d'un échantillon de sang est nécessaire pour confirmer le diagnostic.

Une des difficultés majeures dans la mise au point d'un vaccin contre *Plasmodium* est, qu'au cours de sa vie, le parasite passe successivement par plusieurs stades avec des phases d'intense multiplication asexuée chez l'homme (dans les cellules du foie -phase hépatique - puis dans les

globules rouges du sang - phase érythrocytaire) et une phase de reproduction sexuée suivie de multiplication, chez l'insecte. Chaque stade se termine par la libération d'un parasite d'une forme différente, donc porteur d'antigènes différents et induisant des réponses immunitaires différentes, ce qui complique la recherche d'un vaccin.

2.6.7 : Médicaments antipaludéens (Togola, 2002)

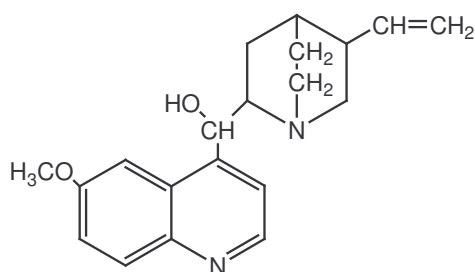
2.6.7.1 : Quinine et dérivés

La quinine est un alcaloïde obtenu à partir des écorces de *Quinquina*. Elle exerce une action schizonticide sanguine rapide sur les différentes espèces plasmodiales. Son administration prolongée permet une guérison du paludisme à *Plasmodium falciparum* mais rarement de l'infection à *Plasmodium vivax*.

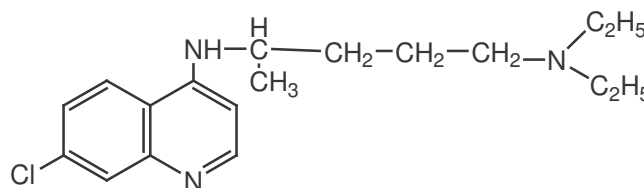
La quinidine est un diastéréoisomère de la quinine avec des propriétés antimalariques similaires. Elle n'est pas recommandée pour le traitement de routine du paludisme simple, mais plutôt pour celui compliqué et par voie parentérale.

La chloroquine est une amino 4 quinoléine très active sur les formes asexuées des quatre espèces de *Plasmodium*, sauf dans les régions où existent des souches pharmacorésistantes.

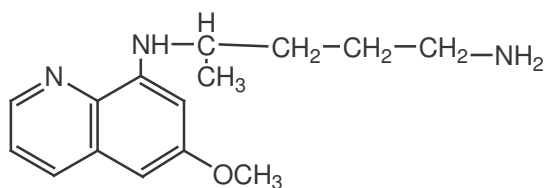
Le chef de file des amino 9 quinoléines est la primaquine qui est très active sur les gamétocytes de toutes les espèces de *Plasmodium*, ainsi que sur les formes exo érythrocytaires latentes.



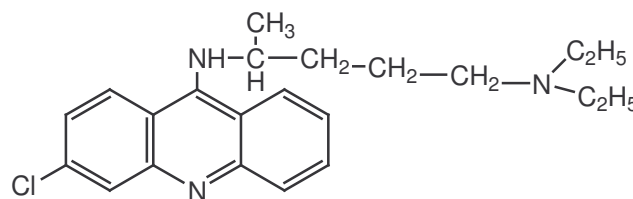
Quinine



Chloroquine



Primaquine



Mépacrine

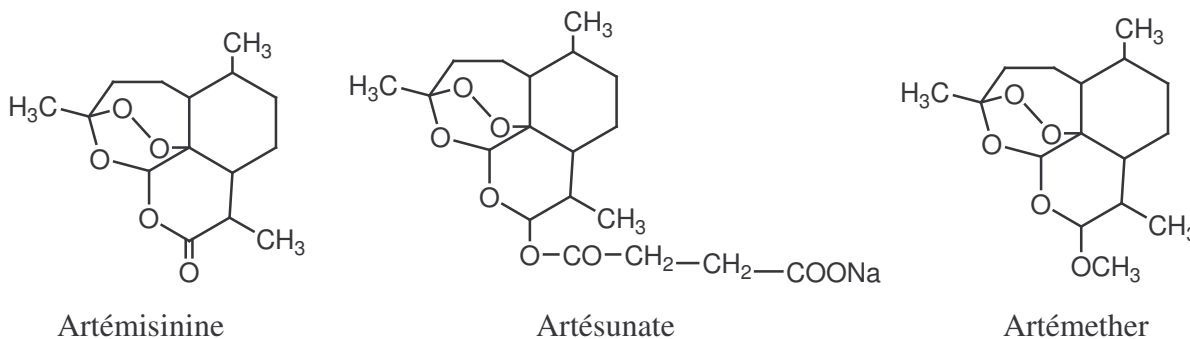
2.6.7.2 : Artémisinine et dérivés

L'artémisinine est obtenue à partir des feuilles de *Artemisia annua* L. (*Asteraceae*).

L'artémether est un dérivé hémisynthétique de l'artémisinine obtenu par réduction de l'oxygène fixé sur le carbone en position 12, ensuite une estérification du groupement OH formé, pour aboutir à deux isomères : α et β .

L'artésunate est obtenu par réduction du groupement lactone de l'artémisinine.

L'artémisinine et ses dérivés sont des puissants schizonticides, notamment avec les souches de *Plasmodium falciparum* chimiorésistantes.



2.6.7.3 : Le malarial

Le malarial est un médicament traditionnel amélioré préparé à partir de trois plantes :

- 62% de feuilles de *Cassia occidentalis* L. (*Cesalpinaceae*) ;
- 32% de feuilles de *Lippia chevalieri* Moldenke (*Verbenaceae*) ;
- 6% de capitules de *Spilantes oleraceae* Jacq (*Asteraceae*).

L'activité antimalarique du malarial a été évaluée sur la prolifération de *Plasmodium falciparum* lignée FCC32 (chloroquinosensible) ; les activités du décocté du malarial ($CI_{50} = 0,6\text{mg/ml}$) et de *Cassia occidentalis* étaient similaires, les deux autres décoctés (*Lippia chevalieri* et *Spilantes oleraceae*) ont été plus actifs avec respectivement 0,3 et 0,18 mg/ml.

2.6.8 : Quelques plantes à activité antipaludique reconnue (Togola,2002)**Tableau VI:** QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTIPALUDIQUES

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Cassia occidentalis</i> L.	<i>Ceasalpinaceae</i>	Feuilles
<i>Lippia chevalieri</i> Moldenke	<i>Verbenaceae</i>	Feuilles
<i>Khaya senegalensis</i> Desr.	<i>Meliaceae</i>	Ecorces de tronc
<i>Spilantes oleraceae</i> Jacq.	<i>Asteraceae</i>	Capitules
<i>Nauclea latidifolia</i> Sm.	<i>Rubiaceae</i>	Ecorces de tronc



CHAPITRE 3
TRAVAUX PERSONNELS

3.1 : Méthodologie

3.1.1 : Etudes phytochimiques

3.1.1.1 : Matériel végétal

Le matériel végétal a été constitué par les écorces de racines et celles de tronc de *Combretum glutinosum*, collectées respectivement le 03 et 04 janvier 2004, à Siby (Région de Koulikoro, République du Mali) par l'herboriste Bakary Traoré.

Le séchage des drogues a été réalisé sur une claie, à l'ombre, et à la température ambiante du laboratoire du DMT pendant une semaine. Pour broyer les drogues séchées, nous avons utilisé un broyeur Resch type SM2000 OSI / 1430 µm. Nous avons obtenu des poudres marron et jaunâtre très fines respectivement pour les écorces de racines et celles de tronc. Nous avons utilisé ces poudres pour nos futures investigations phytochimiques et pharmacologiques. Un spécimen est disponible à l'herbier du DMT.

3.1.1.2 : Identification de la matière première

3.1.1.2.1 : Caractères morphologiques

Les racines de *C. glutinosum* sont droites, rugueuses et de couleur jaune-clair.

Le tronc de *C. glutinosum* est rugueux, de couleur jaune et recouvert d'une écorce rougeâtre.

3.1.1.2.2 : Caractères organoleptiques

La poudre des écorces de racines de *C. glutinosum* est de couleur marron, d'odeur faible et de saveur astringente.

La poudre des écorces de tronc de *C. glutinosum* est de couleur jaunâtre, d'odeur faible et de saveur astringente.

3.1.1.3 Réactions de caractérisation

3.1.1.3.1 : Réactions en tubes

3.1.1.3.1.1 : Alcaloïdes

► Solution à analyser

Nous avons introduit 10 g de poudre végétale séchée dans un erlenmeyer de 250 ml, puis nous avons ajouté 50 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation, nous avons laissé macérer 24 heures à la température du laboratoire du DMT puis filtré sur papier filtre. Ensuite, nous avons complété le filtrat à 50 ml avec de l'eau distillée.

► Caractérisation

Dans deux tubes à essai nous avons introduit 1 ml de filtrat et ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff dans le second. S'il apparaît un précipité, la présence d'alcaloïdes est confirmée par leur extraction.

3.1.1.3.1.2 : Substances poly phénoliques

► Solution à analyser : infusé à 5 %

Nous avons projeté 5 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Après infusion de 15 mn, nous avons filtré et complété le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

► Caractérisation

Tanins

Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 ml d'infusé à 5 % et ajouté 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

- tanins catéchiques

A 5 ml d'infusé à 5%, nous avons ajouté 5 ml d'HCl concentré. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn puis filtré sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge soluble dans l'alcool iso amylique.

- tanins galliques : réaction de Stiasny

A 30 ml d'infusé à 5 %, nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % et 5 ml d' HCl concentré), puis nous avons chauffé au bain-marie à 90 °C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Nous avons ensuite

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

Filtrer et saturer 10 ml du filtrat d'acétate de sodium. Ajouter quelques gouttes de FeCl_3 à 1 %. Le développement d'une teinte bleu-noir 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, nous avons ajouté un acide (5 ml de H_2SO_4 à 10 %) puis une base (NH_4OH). Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violacé en milieu basique, cela permet de conclure à la présence d'anthocyanes.

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

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavonones) ou rouge (flavonols, flavononols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso amylique 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 auronnes, les catéchines et les iso flavones.

- **Leucoanthocyanes** : nous avons effectué la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffé au bain-marie pendant 15 mn. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée.

Les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

3.1.1.3.1.3. : Dérivés anthracéniques

► Anthraquinones libres

A 1 g de poudre, nous avons ajouté 10 ml de chloroforme et chauffé pendant 3 mn au bain-marie. Nous avons ensuite filtré à chaud et complété à 10 ml. A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu, nous avons ajouté 1 ml de NH_4OH dilué et agité. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

► **Anthraquinones combinées**

- **Les O-hétérosides :** A partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, nous avons préparé un hydrolysât auquel il a été ajouté 10 ml d'eau, 1 ml d' HCl concentré puis maintenu le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 mn. 5 ml de l'hydrolysât sont agités avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique, nous avons ajouté 1 ml de NH₄OH dilué. ; la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins foncée.

La réaction peut être plus poussée par addition à 5 ml de l'hydrolysât 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 %, puis agitation avec 5 ml de chloroforme. A la phase chloroformique, nous avons ajouté 1 ml de NH₄OH dilué et agiter. En présence de produits d'oydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

- **Les C-hétérosides :** Nous avons repris la phase chloroformique qui a été conservée par 10 ml d'eau, puis ajouté 1 ml de FeCl₃ à 10 %. Après ébullition au bain-marie pendant 30 mn, nous avons agité avec 5 ml de chloroforme et ajouté à la phase chloroformique 1 ml de NH₄OH dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines C-hétérosides.

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

A 1 g de poudre humectée avec H₂SO₄ à 10 %, nous avons ajouté 20 ml d'un mélange à volume égal d'éther et de chloroforme. Après macération de 24 heures, 5 ml du filtrat obtenu sont évaporés à l'air, puis le résidu repris par quelques gouttes d'éthanol à 95 %. Ensuite, nous avons ajouté goutte à goutte une solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 %.

3.1.1.3.1.4 : Stérols et triterpènes

L'extrait à tester a été obtenu à partir de 1 g de poudre et 20 ml d'éther laissés en macération pendant 24 heures, puis filtrés et complétés à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec 10 ml de l'extrait, nous avons dissout le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Nous avons ensuite partagé dans deux tubes à essai. L'un servant de témoin, nous avons mis dans le fond du second tube à essai à l'aide d'une pipette 1 à 2 ml de H₂SO₄ 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 stérols et triterpènes.

3.1.1.3.1.5 : Caroténoïdes

Après évaporation à sec de 5 ml de l'extrait, nous avons ajouté 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.

3.1.1.3.1.6 : Hétérosides cardiotoniques

► **Solution à analyser**

Nous avons introduit 1 g de poudre dans un tube à essai puis ajouté 10 ml d'éthanol à 60 % et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 %. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 10 mn. Ensuite, nous avons filtré sur coton après avoir porté au bain-marie bouillant pendant 10 mn.

► **Caractérisation**

Nous avons agité le filtrat obtenu avec 10 ml de CHCl_3 dans un tube à essai en évitant la formation d'une émulsion (mettre dans une ampoule à décantation). Après décantation, la phase chloroformique a été soutirée à l'aide d'une pipette puis partagée entre trois tubes à essai et évaporée au bain-marie jusqu'à sec. Les résidus ont été repris avec 0.4 ml d'isopropanol et dans les trois tubes, ont été ajoutés respectivement 1 ml de réactif de Baljet, 1 ml de réactif de Kedde et 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud. Ensuite, nous avons introduit dans chaque tube 2 gouttes de KOH à 2 % dans l'éthanol et observé après une dizaine de minutes. En présence de cardénolides, les colorations suivantes se développent :

- tube 1 : orangé ;
- tube 2 : rouge-violacé ;
- tube 3 : violet fugace.

3.1.1.3.1.7 : Saponosides

► **Décocté à 1 %**

Nous avons porté à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml et y ajouté 1g de poudre puis maintenir une ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, nous avons ajusté le filtrat à 100 ml.

► **Caractérisation**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons reparti successivement 1, 2, ..., 10 ml du décocté à 1 % préparé et ajusté le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau

distillée. Ensuite, chaque tube a été agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Après avoir laissé au repos pendant 15 minutes, nous avons mesuré la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse :

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

3.1.1.3.1.8 : Composés réducteurs

Nous avons introduit 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans un bécher de 100 ml et évaporé à sec au bain-marie. Au résidu, a été ajouté 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B, mélange extemporané). L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

3.1.1.3.1.9 : Oses et holosides

Nous avons introduit 5 ml du décocté à 10 % dans un bécher de 100 ml et évaporé au bain-marie à sec. Au résidu, il a été ajouté 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 5 mn, nous avons ajouté 3 à 4 gouttes d'éthanol saturé avec du thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

3.1.1.3.1.10 : Mucilages

Nous avons introduit 1 ml du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.

3.1.1.3.1.11 : Coumarines

5 ml d'extrait éthéré 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 révélée après ajout dans l'un des tubes de 0,5 ml de NH₄OH à 25 % et observation de la fluorescence sous une lampe UV à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

3.1.1.3.1.12 : Hétérosides cyanogénétiques

Nous avons introduit dans un tube à 1 g de poudre et ajouté 5 ml de toluène et 5 ml d'eau. Après agitation, nous avons nettoyé la partie supérieure du tube à essai. Le papier picrosodé fraîchement préparé a été fixé à l'aide d'un bouchon à la partie supérieure du tube. La présence d'hétérosides cyanogénétiques est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense du papier picrosodé.

3.1.1.3.2 : Dosages de certaines substances

3.1.1.3.2.1 : Substances extractibles par l'eau

Nous avons fait une décoction pendant 15 mn avec 1 g de poudre dans 20 ml d'eau distillée. Le filtrat a été mis dans une capsule préalablement tarée et évaporé à sec. La capsule a été ensuite pesée après refroidissement et la masse du résidu déduite.

3.1.1.3.2.2: Substances extractibles par l'éthanol à 80 %

Nous avons fait une macération de 24 heures à la température ambiante du laboratoire du DMT. Après filtration, le filtrat a été mis dans une capsule préalablement tarée puis évaporé à sec. La capsule a ensuite été pesée après refroidissement et la masse du résidu déduite.

3.1.1.3.2.3 : Dosage de l'eau

3.1.1.3.2.3.1 : Méthode gravimétrique

► **Principe** : il consiste à déterminer la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve à la température de $103^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$ pendant 24 heures.

► **Mode opératoire** : nous avons ensuite introduit 5 prises d'essai (1 à 2 g) respectivement dans 5 verres de montre préalablement tarés (T_1 à T_5). Les masses des prises d'essai plus les tares ont été notées P_1 à P_5 . Après 24 heures de séjour à l'étuve à la température de $103^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, nous les avons pesés de nouveau et noté P'_1 à P'_5 . Les prises d'essai ont été placées à l'étuve jusqu'à masse constante.

La masse d'eau contenue dans la poudre de chaque verre de montre notée m est donnée par la formule :

$$M = P' - P$$

La masse de la prise d'essai est :

$$M_{PE} = P - T$$

Le pourcentage d'eau contenue dans la poudre est :

$$\% \text{ eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{M PE}}$$

M PE : Masse de la prise d'essai.

Nous avons déterminé la moyenne des pourcentages d'eau des 5 verres de montre dans les mêmes conditions.

3.1.1.3.2.3.2 : Méthode de l'entraînement azéotrope

► **Principe** : il consiste à entraîner l'eau contenue dans une prise d'essai de la poudre par distillation avec un solvant non miscible.

► **Mode opératoire** : dans un ballon de 500 ml, nous avons introduit 100 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée et porté l'ensemble à ébullition pendant une heure sous réfrigérant. Après 30 mn de repos, nous avons lu le niveau d'eau (V_1). Ensuite, nous avons introduit 5 g de poudre dans le contenu du ballon et engagé une ébullition d'une heure. Après 30 mn de refroidissement, nous avons lu le niveau d'eau (V_2). Le volume d'eau contenue dans la prise d'essai est calculé selon la formule :

$$V = V_2 - V_1$$

Le pourcentage d'eau est calculé selon la formule :

$$\% \text{ eau} = \frac{V_2 - V_1}{\text{PE}} \times 100$$

PE : masse de la prise d'essai.

3.1.1.3.2.4 : Détermination de la teneur en cendres

3.1.1.3.2.4.1 : Cendres totales

► **Principe** : il repose sur la détermination des substances résiduelles non volatiles contenues dans une drogue lorsque cette dernière est calcinée.

► **Mode opératoire** : nous avons pesé une prise d'essai de la poudre (M) dans un creuset en silice préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600 ° C

pendant 6 heures puis refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai a été déterminée et notée M'.

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

$$mCt = M' - M$$

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

$$M_{PE} = M - T$$

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

$$\% Ct = \frac{m Ct}{M_{PE}} \times 100$$

Nous avons réalisé 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

3.1.1.3.2.4.1 : Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %

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

Nous avons introduit les cendres totales des cinq essais dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml de HCl à 10 %. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, nous avons recueilli et lavé la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, et le filtre a été transféré dans un creuset sec préalablement taré (T). Le creuset contenant le papier filtre a ensuite été séché à l'étuve pendant 24 heures (M) et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600 ° C. Après refroidissement dans un dessiccateur, nous avons pesé le creuset contenant le papier filtre calciné (M').

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

$$mCc = M - T$$

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) est donné par la formule :

$$\% Cc = \frac{mCc}{\sum PE} \times 100$$

$\sum PE$ étant la somme des masses de poudre utilisées pour la détermination des cendres totales.

3.1.1.3.2.4.2 : Cendres sulfuriques

Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est calciné avec du H₂SO₄. Ces cendres déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

Dans un creuset en quartz sec préalablement taré (T), nous avons introduit une prise d'essai de la poudre et pesé l'ensemble (M). La poudre a ensuite été humectée avec H₂SO₄ à 50 % et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100 ° C, le creuset a été porté à calcination dans un four à la température de 600 ° C pendant 6 heures et pesé ensuite après refroidissement (M'). La masse des cendres sulfuriques (M Cs) est donnée par la formule :

$$M \text{ Cs} = M' - T$$

$$\text{La masse de la prise d'essai : } M \text{ PE} = M - T$$

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

$$\% \text{ Cs} = \frac{M \text{ Cs}}{M \text{ PE}} \times 100$$

3.1.1.4: Extractions

3.1.1.4.1 Matériel utilisé

Balance de précision type Sartorius ; Eprouvette graduée de 1000 ml ; Rotavapor type 349/2. J Bibby; Bain-marie Watherbath Bm 480; pompe à vide de marque Edward ; Lyophilisateur Drywinner type Heto; Congélateur marque Zanker ; Ballon de 3 litres ; Entonnoir en verre ; Coton ; potence ; Spatule.

3.1.1.4.2 : Extraction avec l'eau

► Décoction à 10 %

Nous avons introduit 300 g de poudre d'écorces de tronc dans un ballon contenant 3 l d'eau distillée. Pour les écorces de racines, nous avons fait la décoction avec 150 g de poudre dans 1500 ml d'eau distillée. Il s'agit d'une décoction à 10 %. L'ensemble a été maintenu en ébullition au bain-marie pendant trois heures. Après refroidissement, nous avons filtré sur coton puis concentré le filtrat à l'aide du rotavapor sous vide à la température de 55 °C. Nous avons ensuite lyophilisé l'extrait concentré après 48 heures de congélation. La lyophilisation nous a permis d'obtenir des poudres rouge et marron respectivement pour les écorces de racines et celles de tronc. Les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, stériles et hermétiquement fermés.

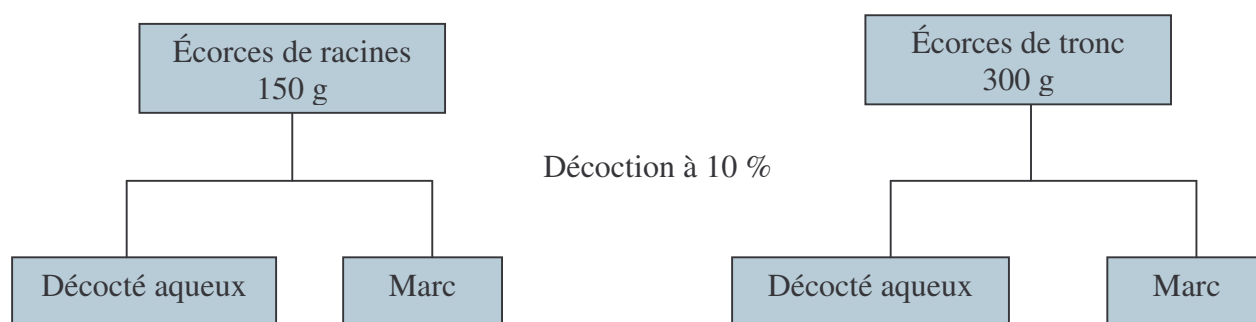


Figure n°3: SCHEMA D'EXTRACTION PAR DECOCTION

► Macération

50 g de poudre ont été introduits dans un erlenmeyer de 1000 ml et macérés dans 500 ml d'eau distillée, sous agitation magnétique, pendant 24 heures. Après filtration sur papier filtre, le filtrat a été concentré au rotavapor sous vide à la température de 50 °C. Cette opération a été répétée

trois fois successivement. Après concentration au rotavapor, les filtrats ont été lyophilisés. Nous avons obtenu des poudres floconneuses de couleur jaunâtre et marron respectivement pour les écorces de racines et celles du tronc. Les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, propres, stériles et hermétiquement fermés. Le marc de la filtration a été séché et conservé dans un sachet en plastique.

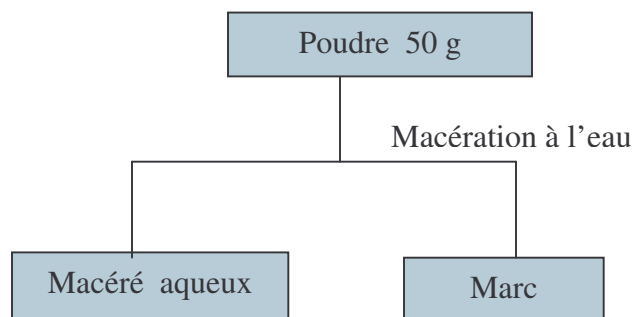


Figure n° 4: SCHEMA D'EXTRACTION PAR MACERATION A L'EAU

3.1.1.4.3. : Macération avec l'éthanol à 80 %

50 g de poudre ont été introduits dans un erlenmeyer de 1000 ml et macérés dans 500 ml dans l'éthanol à 80 %, sous agitation magnétique, pendant 24 heures. Après filtration sur papier filtre, le filtrat a été concentré au rotavapor sous vide à la température de 50 °C. Nous avons répété cette opération trois fois successivement. Après concentration, les filtrats ont été repris avec un peu d'eau distillée puis lyophilisés après 48 heures de congélation. Nous avons obtenu des poudres floconneuses de couleur marron et jaunâtre, respectivement pour les écorces de racines et celles de tronc. Les poudres obtenues ont été conservées dans des flacons en verre, propres, stériles et hermétiquement fermés. Quant au marc de la filtration, il a été séché à la température du laboratoire et conservé dans un sachet en plastique.

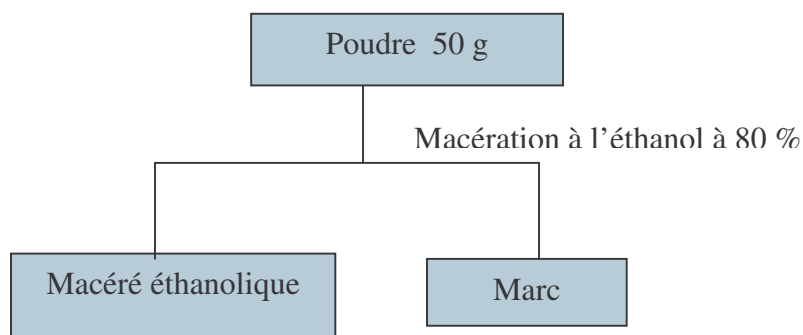


Figure n°5: SCHEMA D'EXTRACTION PAR MACERATION A L'ETHANOL A 80 %

3.1.1.4.4 : Extraction avec les solvants organiques à polarité croissante

180 g de poudre repartis dans 3 cartouches ont été extraits avec 300 ml de dichlorométhane sous réfrigérant à reflux jusqu'à épuisement. L'extrait recueilli dans un ballon a été concentré à l'aide du rotavapor. Après concentration, l'extrait a été recueilli dans un flacon propre laissé ouvert pendant 24 heures afin d'éliminer toute trace de solvant.

La même opération a été reprise avec le méthanol à la différence qu'après concentration à sec au rotavapor, le résidu a été récupéré avec un peu d'eau distillée puis lyophilisé après congélation. Le lyophilisat a été conservé dans un flacon en verre, propre, stérile et hermétiquement fermé.

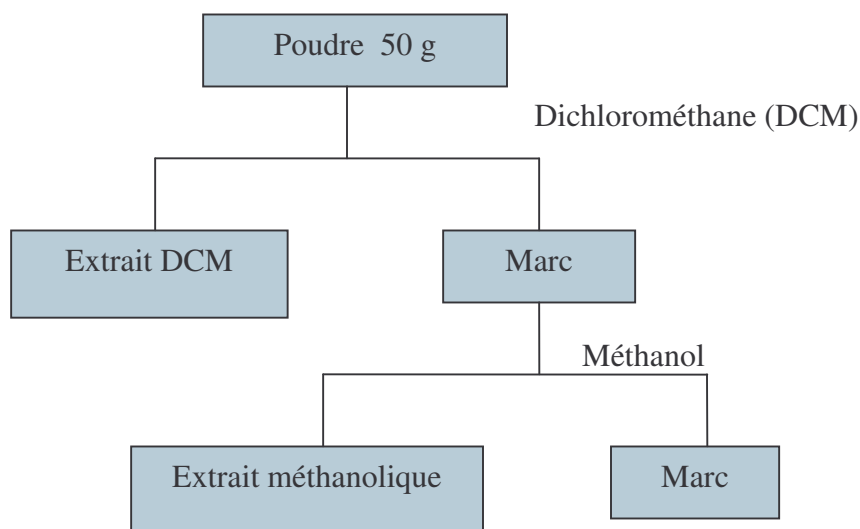


Figure n°6: SCHEMA D'EXTRACTION PAR LES SOLVANTS ORGANIQUES



Figure n°7: LYOPHILISATEUR UTILISE POUR SECHER LES EXTRAITS POLAIRES
DE *Combretum. glutinosum*



Figure n°8: ROTAVAPOR UTILISE POUR CONCENTRER LES EXTRAITS DE *Combretum glutinosum*

3.1.1.5 : Chromatographie sur couche mince (CCM)

3.1.1.5.1 : Matériel et réactifs

Balance analytique de précision type Sartorius ; Plaque en aluminium avec comme support du silicagel 60 F₂₅₄ Merck ; Cuves avec couvercles ; Crayon à papier ; Eprouvette graduée de 20 ml ; Micro pipette de 5µl ; Pulvérisateur ; Réglette graduée ; Séchoir type Solis ; . Lampe UV type Desaga .

Solvants: Butanol, Méthanol, Chloroforme, Acide acétique, Eau distillée

3.1.1.5.2 : Technique

10 mg des extraits aqueux et éthanoliques ont été dissous dans 1 ml d'un mélange eau – méthanol (1 : 1). Les extraits méthanoliques ont été dissous dans 1 ml de méthanol. Quant aux extraits DCM, ils ont été dissous dans 1 ml d'acétate d'éthyle.

A l'aide d'une micro pipette de 5 µl, nous avons déposé 10 µl de chaque solution sur la plaque. Les traces du solvant ont été complètement évaporées des dépôts à l'aide du séchoir.

Nous avons placé la plaque dans les cuves de développement contenant les systèmes de solvants :

► Butanol – Acide acétique – Eau (BAW) (60 : 15 : 25) pour les extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques ;

► Ligroïne – Acétate d'éthyle (1 : 1) pour les extraits DCM.

La migration du solvant d'élution entraîne les substances contenues dans les extraits de plante à des vitesses variées ; il se forme des tâches caractérisant les substances présentes dans l'extrait.

Les plaques ont été retirées des cuves dès que le front du solvant a atteint 8 cm environ. Elles ont été séchées et les substances révélées sous une lampe UV à 254 nm, à 366 nm, puis révélées avec le réactif de Godin qui permet de caractériser plusieurs groupes de constituants chimiques.

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

Chaque substance a été identifiée par sa fluorescence sous UV, par son facteur de rétention (Rf) dans un système de solvant précis, et par sa couleur après révélation avec les réactifs chimiques.

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

3.1.2 : Tests biologiques

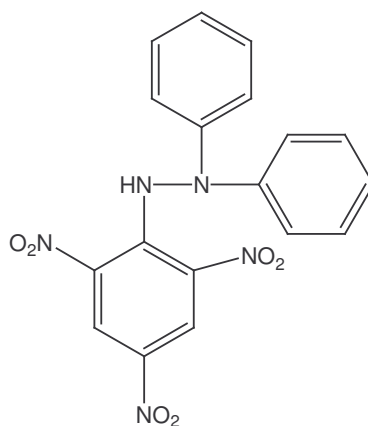
3.1.2.1 : Détermination de l'activité antioxydante

Dépistage de l'activité antioxydante sur CCM à l'aide du DPPH : le test chimique que nous avons utilisé pour déceler la présence de composés antioxydants dans les extraits de plante repose sur le principe de la réduction des radicaux libres fournis par le 1, 1' – diphényl – 2 – picrylhydrazyle (DPPH). Pour réaliser ce test, nous avons déposé 10 µl d'une solution de 10 mg / ml (M / V) de chaque extrait sur la plaque de silicagel 60 F₂₅₄ (Merck) possédant un support en aluminium.

Le développement des plaques a été réalisé dans les systèmes de solvants suivants:

Butanol – Acétate d'éthyle – Eau (65 : 15 : 25) pour les extraits polaires, tandis que les extraits apolaires ont été développés dans le système de solvants ligroïne – acétate d'éthyle (1 :1).

Après migration, les chromatogrammes ont été séchés à l'aide du séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution de DPPH à la concentration de 2 mg / ml (M / V) dans le méthanol. En présence de substances antioxydantes, le DPPH est réduit et passe de la couleur pourpre au jaune. Sur les plaques CCM, les zones d'activités antiradicalaires apparaissent en jaune – clair sur fond violet après un temps optimal de 30 mn (Takao et al, 1994).



1,1' diphényl 2 picrylhydrazyle

3.1.2.2 : Détermination de l'activité antifongique

Méthode bio autographique (Diallo, 2000)

3.1.2.2.1 : Préparation des chromatogrammes

Les solutions correspondent aux concentrations de 30 et 60 mg/ml (M/V) pour les extraits aqueux et organiques de *Combretum glutinosum* et 10 et 20 mg/ml pour le témoin constitué par une solution de nystatine en solution chloroformique à la concentration de 100 µg /ml (M/V).

10µl de chaque concentration ont été sur les plaques en verre et développées dans le système de solvants suivants :

- Butanol-Acide acétique -Eau (60 :15 :25) pour les extraits aqueux, hydro-alcooliques et alcooliques ;
- Ligoïne – Acétate d'éthyle (1 :1) pour les extraits DCM.

Les plaques en verre avec comme support du silicagel 60 F₂₅₄ Merck ont été réalisées en double dont l'une sert de témoin.

Chaque plaque en verre a été visualisée à l'UV 254 nm, puis à 366 nm. Les plaques ont été séchées à la température ambiante du laboratoire du DMT avant le test, afin d'éliminer toute trace de solvant.

Quant aux plaques témoins, elles ont été révélées avec le réactif de Godin pour permettre l'identification des substances après le test biologique.

3.1.2.2.2 : Matériel technique et extraits utilisés

Etuve réglée à 37° C ; Réfrigérateur ; Milieux de cultures ; Boîtes de pétri ; Pipettes Pasteur stériles ; Eau physiologique ; Eau distillée ; Tubes stériles de 16 x 160 mm ; Disques blancs stériles non imprégnés de 6mm de diamètre ; Produit pathologique : urines ; Micro pipettes de 5 µl ; Balance de précision ; Gaz butane.

Nous avons testé les décoctés aqueux, les macérés queux et éthanoliques, les extraits dichlorométhaniques et les extraits méthanoliques des poudres des écorces de tronc et de racines de *C.glutinosum*.

3.1.2.2.3 : Solution de référence

Elle a été constituée par la nystatine dissoute dans du chloroforme à la concentration de 100 µg/1ml.

3.1.2.2.4 : Champignons utilisés pour le test

Nous avons utilisé des souches de *Candida albicans* obtenues à partir des prélèvements vaginaux au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital national du Point "G".

3.1.2.2.5 : Milieux de culture

Nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- Sabouraud gélose + chloramphénicol + actidione
- Sabouraud gélose liquide (SDA : Sabouraud Dextrose Agar)
- Malt agar.

3.1.2.2.5.1 : Préparation du milieu Sabouraud gélose liquide

Dissoudre 15 g de poudre de Sabouraud gélose dans 1 litre d'eau distillée. Attendre 5 mn puis bien agiter afin d'obtenir une suspension homogène. Chauffer en agitant jusqu'à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé sera stérilisé à l'autoclave à la température de 121 ° C pendant 15 mn.

3.1.2.2.5.2 : Préparation du milieu Sabouraud gélose + Chloramphénicol + Actidione

Nous avons utilisé la même méthode que précédemment en ajoutant le chloramphénicol et l'actidione qui permettront l'isolement de *Candida albicans* en éliminant les germes saprophytes.

3.1.2.2.5.3 : Préparation du milieu Malt Agar

Ajouter 48 g de Malt Agar à 1 litre d'eau déminéralisée par chauffage dans un bain – marie bouillant ; passer avec précaution à l'autoclave pendant 10 mn à la température de 121 ° C sans surchauffer.

3.1.2.2.6 : Identification et isolement des souches de *C. albicans*

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

► Examen microscopique :

Faire des observations du prélèvement entre lame et lamelle. Les caractères microscopiques considérés ont trait à l'aspect des cellules. *C. albicans* présente un aspect de cellules lévuriformes, rondes, ovalaires ou bourgeonnantes.

► **Culture :**

La culture a été réalisée sur le milieu Sabouraud gélose + chloramphénicol + actidione coulé dans la boîte de pétri. Pour cela, nous avons procédé au passage de l'écouvillon de prélèvement sur le milieu de culture incorporé dans la boîte de pétri et incubé à la température de 30 ° C pendant 24 heures.

► **Coloration de Gram**

Prélever dans la boîte de pétriensemencée une colonie de levures ;

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

Après préparation de la lame, réaliser la coloration de Gram proprement dite.

Ensuite, observer à l'aide d'un microscope optique à l'objectif 100 en immersion.

► **Test de filamentation**

C'est un test préalable au test biologique qui atteste de l'authenticité de la souche de *C. albicans*.

Ce test met en évidence la production de filaments caractéristiques de *C. albicans*.

La souche estensemencée dans un tube contenant du sérum humain.

L'inoculum doit être suffisant pour donner un très léger trouble dans le milieu (0,5 ml de sérum pour une colonie). L'observation des filaments se fait au microscope à l'objectif 40 après 3 heures d'incubation à 37 ° C.

La conservation des souches se fait sur le milieu Sabouraud + chloramphénicol + actidione coulé en tube incliné.

Principe :

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

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

3.1.2.2.7 : Solutions à tester et témoin

Les extraits de *Combretum glutinosum* devant subir le test biologique ont été utilisés à des concentrations progressives de 30 mg/ml et 60 mg/ml. Les extraits aqueux ont été dissous dans de l'eau distillée tandis que les extraits organiques dans des solvants appropriés.

Le test antifongique sur *C. albicans* recommande la nystatine comme témoin en solution chloroformique à la concentration de 1 mg/ 10 ml.

3.1.2.2.8 : Technique du test

Le test s'est déroulé en trois jours :

Jour 1

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

Jour 2

(2) Préparer deux erlenmeyers contenant 50 ml de milieu de culture Sabouraud liquide et les stériliser à l'autoclave pendant 15 mn à 121 ° C.

(3) Ajouter à froid à l'aide d'une pointe de spatule une colonie issue de (2) dans l'un des milieux préparés en (2).

(4) Laisser sous agitation pendant une nuit.

Jour 3

(5) En début de matinée, prendre 0,5 ml du milieu précédent (trouble) et l'ajouter au second milieu préparé en (2) , soit une dilution de 100 fois.

(6) Laisser reposer pendant environ 7 heures sous agitation. Ce temps est nécessaire pour atteindre la phase de croissance exponentielle de *C. albicans*

(7) Pendant ce temps, préparer les milieux de culture à base de malt agar qui seront la base de l'inoculum versé sur les plaques CCM, et les répartir en erlenmeyers de 50 ml. La quantité du milieu de culture est fonction de la dimension de la plaque ; pour une plaque de 10 X 10 cm, la quantité de malt agar sera de 10 ml.

(8) Maintenir le malt agar fondu au bain – marie à 48 ° C car au-dessus de cette température, les levures ne survivent pas et en dessous de 43 ° C, le milieu se solidifie.

(9) Ajouter 0,5 ml de cette solution obtenue en (5) à chaque fraction de 50 ml de malt agar fondu, afin d'obtenir un inoculum contenant 10⁵ cellules / ml.

(10) Laisser à nouveau se reposer à 48 ° C ;

(11) Verser l'inoculum sur les plaques à l'aide de pipettes stériles à raison de 10 ml par portion de 10 X 10 cm ;

(12) Incuber à 30 ° C pendant une nuit en atmosphère humide en utilisant des boîtes en plastique contenant un papier buvard trempé ;

(13) Révéler les plaques à l'aide d'une solution aqueuse de bromure de méthylthiazoyltétrazolium (MTT) à 2,5 mg / ml. Les zones d'inhibition de croissance apparaissent sous forme de taches incolores sur fond violet, après une nouvelle incubation de 4 heures. Tous les extraits de *C. glutinosum* seront à la même technique et au même test.

(14) Gicler de l'éthanol sur les plaques afin de tuer les microorganismes.

(15) Les plaques ont ensuite été ensuite recouvertes de feuilles de plastiques transparentes afin de les conserver.

3.1.2.3 : Détermination de l'activité antibactérienne

3.1.2.3.1 : Bactéries testées

Escherichia coli

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Streptocoque bêta hémolytique.

Ces germes ont été isolés à partir de prélèvements d'urines du laboratoire de biologie médicale de l'hôpital national du Point "G".

3.1.2.3.2. Matériel technique et extraits utilisés

Il s'agit des mêmes que ceux utilisés pour la détermination de l'activité antifongique.

3.1.2.3.3 : Mode opératoire

- Examen à l'état frais ;
- Coloration de Gram ;
Mise en culture ;
- Identification ;
- Antibiogramme.

3.1.2.3.4: Isolement des colonies

Pour l'isolement des colonies, nous avons utilisé les milieux de culture suivants : la gélose de Drigalski pour les bacilles à Gram négatif et la gélose au sang pour les cocci à Gram positif.

Les germes ont été isolés à partir des prélèvements d'urines provenant de sujets présentant des signes d'infection urinaire. Après identification, les germes ont été conservés au réfrigérateur d'où ils ont été retirés pour le test.

Pour l'identification de *Staphylococcus aureus*, nous avons réalisé dans un premier temps la coloration de Gram afin d'apprécier la morphologie et le test de la catalase permettant de le différencier du Streptocoque. *Staphylococcus aureus* est catalase positif contrairement au streptocoque qui est catalase négatif. *Staphylococcus aureus* a été identifié par le réactif Pastorex Staph de Bio-rex.

3.1.2.3.5 : Technique du test

Le test s'est déroulé en deux jours :

Jour 1

- Préparation des solutions

Les macérés éthanoliques et aqueux, les extraits méthanoliques et les décocté aqueux ont été dissous dans de l'eau distillée, tandis que les extraits dichlorométhaniques ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde. 100 mg de l'extrait ont été dissous dans 1 ml du solvant indiqué.

- Imprégnation des disques

Les disques blancs de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 4 et 5µl de la solution préparée et placés dans des boîtes de pétri où ils sont séchés, soit des dosages de 400 et 500µg de l'extrait par disque.

- Préparation de la suspension bactérienne

Une colonie bien isolée issue d'une culture a été introduite dans 10 ml d'eau distillée contenue dans un tube à essai pour les antibiogrammes de *Staphylococcus aureus*, *Escherischia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Pour l'antibiogramme du streptocoque β hémolytique, la suspension bactérienne a été réalisée avec de l'eau physiologique selon le même procédé que précédemment.

- Mise en test

Jour1 :

La suspension bactérienne préparée a été coulée sur la gélose de Mueller Hinton (MH) pour les bacilles et le Staphylocoque et la gélose de Mueller Hinton au sang frais pour le Streptocoque. Après l'inondation de toute la surface du milieu par la suspension bactérienne, le surnagent a été jeté par aspiration avec une pipette de transfert. Chaque boîte a reçu dix disques déposés sur un numéro d'identification apposé sur la face inférieure de la boîte. Les milieux ont ensuite été incubés à l'étuve pendant 24 heures environ. Les milieux de réisolement seront conservés au réfrigérateur.

Jour2 :

Nous avons procédé à la mesure du diamètre des zones d'inhibition, dans le cas de sensibilité autour des disques de 6 mm de diamètre.

3.1.2.4 : Détermination de l'activité anti-inflammatoire

Méthode de l'Oedème à la carraghénine

3.1.2.4.1: Animaux utilisés

Nous avons travaillé sur des souris mâles et femelles de masse variant entre 20 et 30 g, fournies par l'animalerie du Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM). Ces souris sont issues d'une souche non consanguine sélectionnée à partir d'une lignée de souris présentant des caractéristiques de vigueur et de productivité appelée CF₁ (Carworth Farms Souche 1) et qui a été introduite à l'institut Marchoux en 1967 et pris le nom de OF₁ (Oncins France Souche 1).

Nous avons travaillé sur 30 souris réparties en 3 lots aussi homogènes que possibles en fonction de leur masse :

- le premier lot a été traité par le décocté aqueux de *Combretum glutinosum* à la dose de 200 mg/kg de masse corporelle ;
- le deuxième lot a été traité par l'indométacine à la dose de 8 mg / kg de souris ;
- le troisième lot qui est le lot témoin a reçu uniquement de l'eau distillée à raison de 0,025 ml / 100 g de masse corporelle.

3.1.2.4.2 : Matériels et réactifs

- Solution de carraghénine à 1% dissoute dans le sérum physiologique ;
- Solution aqueuse de l'extrait de *C. glutinosum* à la dose de 200 mg / ml ;
- Solution aqueuse d'indométacine à la dose de 8 mg/kg ;
- Balance analytique de précision ;
- Sonde gastrique ; Seringues de 1 ml ;
- Plethysmomètre APALEX 7140 Ugo Basile ;
- Calculatrice ; Gants ; Cage.

3.1.2.4.3 : Le pléthysmomètre APALEX 7140 Ugo Basile

Le pléthysmomètre est un appareil de mesure de volume conçu pour des mesures précises de grossissement de la patte traitée de l'animal (souris, rat) par comparaison avec celle non traitée. Il est constitué d'une cellule contenant de l'eau physiologique dans laquelle plonge la

patte de l'animal. La différence du niveau d'eau après immersion de la patte est déterminée par un transducteur relié à un appareil numérique. La lecture numérique indique la valeur exacte du grossissement en ml. Le zéro de l'instrument est fait avant chaque mesure.

Le pléthysmomètre permet ainsi :

- une lecture numérique précise ;
- une mise en évidence de petites variations de volumes ;
- et un screening rapide d'un grand nombre d'animaux.

3.1.2.4.4 : Méthode : principe de l'œdème de la patte à la carraghénine :

Nous avons mis les souris à jeun de 18 heures avant le test ; une heure avant de provoquer l'inflammation, nous avons administré par voie orale, à l'aide d'une sonde gastrique, l'extrait aqueux de *Combretum glutinosum* au premier lot de souris ;

Les deuxième et troisième lots ont reçu par la même voie, respectivement, de l'indométacine et de l'eau distillée. L'inflammation a été produite par injection, sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris, 50 µl de la solution de carraghénine à 1%, ce qui entraîne la formation d'un œdème de la région métatarsienne. Les souris ont ensuite été remises en cage avant les différentes mesures. Les volumes des pattes postérieures droites ont ensuite été mesurées au bout d'une heure, 2 heures, 3 heures, 4 heures et 5 heures.

3.1.2.4.5 : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Pour chaque lot traité, nous avons calculé le pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème des pattes traitées par rapport au lot témoin, en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ INH} = \frac{\% \text{ AUG témoin} - \% \text{ AUG traité}}{\% \text{ AUG témoin}}$$

Ce % INH exprime le pouvoir d'inhibition de l'œdème par une substance, donc l'activité anti-inflammatoire de cette substance.

Le pourcentage d'augmentation de la patte (% AUG) est donné par la formule :

$$\% \text{ AUG} = \frac{V_t - V_o}{V_o}$$

V_o = volume de la patte sans traitement ;

V_t = volume de la patte après administration de la carraghénine et traitement



Figure n°9: ADMINISTRATION ORALE DE L'EXTRAIT DE *Combretum. Glutinosum* A LA SOURIS



Figure n°10: MESURE DU VOLUME DE LA PATTE DE LA SOURIS AVEC LE PLETHYSMOMETRE

3.1.2.5 : Détermination de l'activité antiplasmodiale **sur *Plasmodium falciparum* in vitro**

Les extraits à tester ont été préparés au laboratoire du Département Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé publique de Bamako (Mali). Le test proprement dit a été réalisé à l'Institut des maladies tropicales de Bâles en Suisse.

3.1.2.5.1 : Souche standard

Elle a été constituée par une souche de *Plasmodium falciparum* K1 résistante à la chloroquine et à la pyriméthamine.

3.1.2.5.2 : Antipaludéen standard

Il a été constitué par la chloroquine Sigma à la concentration maximale de 200 ng/ml.

3.1.2.5.3 : Conditions expérimentales

- ▶ milieu de culture : RPMI 1640 avec hypoxanthine Hepes 5,94 g/l ; NaHCO₃ ; Néomycine 100U/ml ; Albumax® 5 g/l ;
- ▶ plaques : Costar™ 96 ;
- ▶ incubation : chambre humide contenant 4 % de CO₂, 3 % de O₂ et 93 % de N₂.

3.1.2.5.4 : Préparation des extraits

Les extraits à tester ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à 10 mg/ml. Pour la dissolution, le mélange a été chauffé ou placé dans un bain-marie à ultrason si nécessaire. Ensuite, les mélanges ont été incubés à la température de 4 °C pendant deux semaines, puis à -20 °C. Des dilutions récentes sont préparées chaque fois pour le test.

2.1.2.5.5 : Technique du test

- ▶ préparer un milieu fluide avec le stock de culture ;
- ▶ préparer une solution de cellules parasitées ayant un taux d'hématocrite de 0,3 % ;
- ▶ verser 100 µl du milieu de culture dans chaque trou de la plaque ;

- ▶ verser 100 µl du milieu de culture contenant la substance à tester à une concentration 4 fois supérieure dans les trous de la ligne B ;
- ▶ prélever 100 µl des trous de la ligne B après mélange et les transférer dans les trous de la ligne C et ainsi de suite jusqu'à la ligne H. Une série de dilutions à facteur $\frac{1}{2}$ est ainsi obtenue. Les concentrations de la substance à tester vont de 5 µg à 78 ng/ml ;
- ▶ ajouter 100 µl de la solution de cellules parasitées au contenu de chaque trou de la plaque exceptés les trous A₉ à A₁₂ qui recevront une solution de cellules non parasitées.

Ainsi, tous les trous ont un taux d'hématocrite égal à 1,25 % et une parasitémie de 0,15 % au début de l'incubation.

La chloroquine a été utilisée comme référence à la concentration de maximale de 200 ng/ml.

La plaque a été incubée pendant 48 heures ; ensuite ajouter 100 µl d'hypoxanthine dans chaque trou et incuber de nouveau pendant 24 heures ; centrifuger et récupérer les hématies sur un filtre où elles sont lavées et observées au microscope afin de déterminer la parasitémie. L'inhibition est déterminée graphiquement et la concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) est calculée.

3.2 : Résultats

3.2.1 : Etudes phytochimiques

3.2.1.1 : Réactions de caractérisation

3.2.1.1.1: Réactions en tubes sur la poudre d'écorces de tronc

Tableau VII : RESULTATS DES REACTIONS EN TUBES SUR LA POUDRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum*

Recherches	Résultats
Tanins : FeCl ₃ à 10%	+++
Tanins : HCl concentré	+++
Tanins : réactions de Stiasny	+++
Leucoanthocyanes	++
Coumarines	++
Composés réducteurs	++
Stérols et tri terpènes	++
Polyuronides (Mucilages)	++
Saponosides : Mousse	++
Saponosides : Indice de mousse	143,33

- +++ : Réaction très positive
- ++ : Réaction moyennement positive
- ++ : Réaction faiblement positive

Sur l'ensemble de nos réactions en tubes, celle des tanins a été la plus franche avec une prédominance des tanins galliques. Par contre, les alcaloïdes et les hétérosides cardiotoniques ont été absents dans l'échantillon analysé.

3.2.1.1.2 : Dosages de certaines substances**3.2.1.1.2.1 : Substances extractibles par l'eau**

La teneur des substances extractibles par l'eau a été de 45,40 %.

3.2.1.1.2.2 : Substances extractibles par l'éthanol à 80 %

26,63 % des substances contenues dans la poudre ont été extraites par l'éthanol à 80 % dans l'eau.

3.2.1.1.2.3 : Dosage de l'eau**► Méthode gravimétrique**

Tableau VIII : TENEUR EN EAU DE LA POUDRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum*

Tare g	Masse avant étuve g	Masse après étuve g	Masse prise d'essai g	Masse eau g	Pourcentage eau %
12,58	15,33	15,21	2,75	0,12	4,36
13,23	14,25	14,14	3,02	0,11	3,64
12,65	15,08	15,00	2,53	0,08	3,16
13,36	15,38	15,27	2,02	0,11	5,44
12,57	15,23	15,10	2,66	0,13	4,88

$$\text{La teneur moyenne en eau} = \frac{4,36 + 3,64 + 3,16 + 5,44 + 4,88}{5} = 4,29 \%$$

La teneur moyenne en eau est inférieure à 10 %, ce qui veut dire que notre poudre peut être conservée sans altération des principes actifs.

► Méthode azéotropique

Par cette méthode, nous avons obtenu une teneur en eau de 7 %.

3.2.1.1.2.4 : Dosage des cendres**3.2.1.1.2.4.1 : Cendres totales**

Tableau IX : TENEUR EN CENDRES TOTALES DE LA POUDRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum*

Tare g	Masse avant calcination g	Masse après calcination g	Masse prise d'essai g	Masse cendres g	Pourcentage cendres %
28,13	31,13	28,32	3,00	0,18	6,00
24,16	27,12	24,36	2,96	0,19	6,41
16,82	19,57	17,00	2,74	0,18	6,56

$$\text{La teneur moyenne en cendres} = \frac{6,00 + 6,41 + 6,56}{3} = 6,32 \%$$

3.2.1.1.2.4.2 : Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %

3,20 % des cendres totales ont été insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10 %.

3.2.1.1.2.4.3 : Cendres sulfuriques (H₂SO₄ à 50 %)

La teneur en cendres sulfuriques a été de 5,62 %.

Tableau X : TENEUR DES SUBSTANCES DOSEES DANS LA POUDRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum*

Substances	Teneur en %
Substances extractibles par l'eau	45,40
Eau (méthode gravimétrique)	4,29
Eau (méthode azéotropique)	7
Substances extractibles par l'éthanol	26,63
Cendres totales	6,32
Cendres insolubles dans HCl à 10 %	3,20
Cendres sulfuriques (H ₂ SO ₄ à 50 %)	5,62

La teneur en eau a été inférieure à 10 %, ce qui permet une bonne conservation de la drogue.

3.2.1.1.3 : Réactions en tubes sur la poudre d'écorces de racines**Tableau XI :** RESULTATS DES REACTIONS EN TUBES DE LA POUDRE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum*

Recherches	Résultats
Tanins : FeCl ₃	+++
Tanins : HCl	++
Tanins : Réaction de Stiasny	++
Leucoanthocyanes	+++
Coumarines	+++
Stérols et tri terpènes	+++
Polyuronides (mucilages)	++
Saponosides : Mousse	++
Saponosides : Indice de mousse	500

+++ : Réaction très positive ;

++ : Réaction moyennement positive ;

+ : Réaction faiblement positive

Les tanins ont donné les réactions les plus franches. Il s'agit surtout de tanins galliques. Par contre, les alcaloïdes et les hétérosides cardiotoniques ont été absents dans l'échantillon analysé.

3.2.1.1.4 : Dosage de certaines substances**3.2.1.1.4.1 : Substances extractibles par l'eau**

30,31 % des substances contenues dans la poudre ont été extractibles par l'eau.

3.2.1.1.4.2 : Substances extractibles par l'éthanol à 80 %

La teneur des substances extractibles par l'éthanol à 80 % a été de 21,72 %.

3.2.1.1.4.3 : Dosage de l'eau**► Méthode gravimétrique**

Tableau XII : TENEUR EN EAU DE LA POUDRE D'ECORCES DE RACINE DE *Combretum glutinosum*

Tare g	Masse avant étuve g	Masse après étuve g	Masse prise d'essai g	Masse eau g	Pourcentage eau %
8,91	11,09	10,99	2,28	0,10	4,38
10,41	12,02	11,95	1,61	0,07	4,34
9,21	11,23	11,13	2,02	0,10	4,95
9,81	11,25	11,12	1,39	0,13	9,35
9,21	11,01	10,89	1,80	0,12	6,66

$$\text{La teneur moyenne en eau} = \frac{4,38 + 4,34 + 4,95 + 9,35 + 6,66}{5} = 5,93 \%$$

La teneur en eau est inférieure à 10 %, ce qui montre l'aptitude de notre poudre à être conservée longtemps sans risque d'altération.

► Méthode azéotrope

Par cette méthode, nous avons obtenu une teneur en eau de 6 %.

3.2.1.1.4.4 : Dosage des cendres**3.2.1.1.4.4.1 : Cendres totales**

Tableau XIII : TENEUR EN CENDRES TOTALES DE LA POUDRE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum*

Tare g	Masse avant calcination g	Masse après calcination g	Masse prise d'essai g	Masse cendres g	Pourcentage cendres %
15,33	17,87	15,60	2,54	0,27	10,62
14,64	17,23	14,91	2,59	0,27	10,42
14,96	17,09	15,18	2,13	0,22	10,32

$$\text{Teneur moyenne en cendres totales} = \frac{10,62 + 10,42 + 10,32}{3} = 10,45 \%$$

3.2.1.1.4.4.2 : Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique à 10%

La teneur des cendres insolubles dans HCl à 10 % a été de 5,97 % des cendres totales.

3.2.1.1.4.4.3 : Cendres sulfuriques (H₂SO₄ à 50 %)

La teneur des cendres insolubles dans H₂SO₄ à 50 % a été de 6,21 %.

Tableau XIV : TENEUR DES SUBSTANCES DOSEES DANS LA POUDRE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum*

Substances	Teneur %
Substances extractibles par l'eau	30,31
Substances extractibles par l'éthanol à 80%	21,72
Teneur en eau (méthode gravimétrique)	5,93
Teneur en eau (méthode azéotropique)	6
Cendres totales	10,45
Cendres sulfuriques (H ₂ SO ₄ à 50 %)	5,97
Cendres chlorhydriques (HCl à 10 %)	6,21

La majorité des substances a été extractible par l'eau avec une teneur de 30,31 %.

La teneur en eau est inférieure à 10 % par les deux méthodes.

3.2.1.2: Extractions

La masse, le rendement, l'aspect et la couleur des extraits et fractions obtenus à partir de chaque organe de la plante sont reportés dans le tableau XV.

Tableau XV : MASSE, RENDEMENT, ASPECT ET COULEUR DES EXTRAITS ET FRACTIONS OBTENUS A PARTIR DE LA POUDRE D'ECORCES DE TRONC ET CELLE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum*

Extraits	Masse g	Rendement %	Couleur	Aspect
Ecorces de tronc				
Décocté à 10%	52,01	17,33	Rouge	Brillant
Macéré aqueux	5,95	11,90	Jaunâtre	Floconneux
Macéré éthanolique	16,54	33,08	Rouge	Floconneux
Extrait dichlorométhane	1,91	1,06	Verdâtre	Floconneux
Extrait méthanolique	13,85	7,69	Rouge	Floconneux
Ecorces de racines				
Décocté à 10 %	14,30	9,53	Marron	Brillant
Macéré aqueux	8,89	17,78	Marron	Floconneux
Macéré éthanolique	10,48	20,09	Rouge	Floconneux
Extrait dichlorométhane	2,87	1,59	Brune	Floconneux
Extrait méthanolique	15,66	8,70	Brune	Floconneux

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré éthanolique de la poudre des écorces de tronc, soit 33,08 % tandis que notre plus faible rendement a été obtenu avec l'extrait dichlorométhane de la poudre du même organe, soit 1,06 %.

3.2.1.3 : Chromatographie sur couche mince (CCM)

3.2.1.3.1 : Résultats de la CCM sur les extraits d'écorces de tronc de *Combretum glutinosum*

Les résultats de la CCM sur les extraits d'écorces de tronc de *Combretum glutinosum* sont consignés dans les tableaux XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI. Chaque substance a été caractérisée par sa fluorescence sous UV, son Rf et la couleur de la tache après révélation par les révélateurs chimiques.

Tableau XVI : RESULTAT DE LA CCM DES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME B A W (60 :15 :25) APRES OBSERVATION A L'UV 254 nm

Révélation	Extraits	Tache	Rf
UV 254 nm	Décocté aqueux 10 %	Grise	0,13
		"	0,25
		"	0,45
		"	0,68
		"	0,80
	Macéré aqueux	"	0,90
		"	0,16
		"	0,45
		"	0,88
		"	0,26
	Macéré éthanolique 80 %	"	0,47
		"	0,67
		"	0,90
		"	0,26
	Epuisé méthanolique	Grise	0,26
"		0,47	
"		0,91	

Tous nos extraits ont donné des spots de couleur grise à l'UV 254 nm. Le décocté aqueux a montré le plus de taches à cette longue d'onde.

Tableau XVII : RESULTAT DE LA CCM SUR LES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME BAW (60:15:25) APRES OBSERVATION A L'UV 366 nm

Révélation	Extraits	Taches	Rf
UV 366 nm	Décocté aqueux 10 %	Blanche sur fond violet	0,47
	Macéré aqueux	"	0,90
	Macéré éthanolique à 80 %	"	0,23
		"	0,92
	Epuisé méthanolique	Blanche sur fond violet	0,46

L'extrait éthanolique à 80 % a montré le plus grand nombre de spots à cette longueur d'onde alors que les autres extraits ont montré chacun un seul spot de couleur blanche sur fond violet.

Tableau XVIII : RESULTAT DE LA CCM SUR LES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME BAW (60 :15 :25) APRES REVELATION AVEC LE REACTIF DE GODIN

Révélation	Extraits	Taches	Rf	
Réactif De Godin	Décocté aqueux 10 %	Marron	0,15	
		Jaunâtre	0,50	
		violette	0,87	
	Macéré aqueux	Marron	0,06	
		Jaunâtre	0,50	
		Macéré éthanolique à 80 %	Marron	0,13
	Extrait méthanolique		Jaunâtre	0,47
			Noirâtre	0,87
			Marron	0,00
		Jaune	0,47	
		Violette	0,97	

Les taches violettes aux rf 0,87 et 0,97 pourraient être des composés terpéniques.

Tableau XIX : RESULTAT DE LA CCM DE L'EXTRAIT APOLAIRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME LIGROINE -ACETATE D'ETHYLE (1 :1) APRES OBSERVATION A L'UV 254 nm.

Révélation	Extraits	Tache	Rf
	Extrait dichlorométhanique	rouge	0,13
UV254nm		rouge	0,80

Deux substances ont été visibles à cette longueur d'onde.

Tableau XX : RESULTAT DE LA CCM DE L'EXTRAIT APOLAIRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME LIGROINE -ACETATE D'ETHYLE (1 :1) APRES OBSERVATION A L'UV 366nm

Révélation	Extraits	Tache	Rf
	Epuisé DCM	Verdâtre	0,13
UV366nm		verdâtre	0,80

Les mêmes taches observées à 254 nm ont été visibles à 366 nm aux mêmes Rf. Ce serait les mêmes substances.

Tableau XXI : RESULTAT DE LA CCM DE L'EXTRAIT APOLAIRE D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME LIGROINE -ACETATE D'ETHYLE (1 :1) AVEC REVELATION AU REACTIF DE GODIN

Révélation	Extraits	Tache	Rf
	Epuisé DCM	violette	0,14
UV366		violette	0,82

Les substances observées pourraient être les mêmes que celles observées après l'UV 254 nm et 366 nm, vues leurs rf.

3.2.1.3.2 : Résultats de la CCM sur les extraits d'écorces de racines de *Combretum glutinosum*

Les résultats de la CCM sur les extraits d'écorces de racines de *Combretum glutinosum* sont consignés dans les tableaux XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVI, XXVII. Chaque substance a été caractérisée par sa fluorescence sous UV, son Rf et la couleur de la tache après révélation par les révélateurs chimiques.

Tableau XXII : RESULTAT DE LA CCM DES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME BAW (60:15:25) APRES OBSERVATION A L'UV 254 nm

Révélation	Extraits	Tache	Rf	
UV 254 nm	Décocté	Grise	0,16	
	aqueux	"	0,25	
		"	0,43	
		"	0,78	
		"	0,88	
	Macéré	"	0,17	
		aqueux	"	0,28
			"	0,66
	Macéré éthanolique 80 %	"	0,11	
		"	0,26	
		"	0,46	
		"	0,86	
		"	0,93	
Extrait méthanolique	Marron	0,26		
	"	0,57		
	"	0,93		

Tous nos extraits ont donné des spots de couleur grise à l'UV 254 nm sauf l'extrait méthanolique qui a donné des spots de couleur marron.

Tableau XXIII : RESULTAT DE LA CCM SUR LES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME BAW (60 :15 :25) AVEC REVELATION A UV 366 nm

Révélation	Extraits	Taches	Rf
UV 366 nm	Décocté aqueux 10%	Blanche	0,35
		"	0,92
	Macéré aqueux	"	0,93
	Macéré éthanolique à 80 %	"	0,30
	Extrait méthanolique	Noire	0,46
		"	0,77

Le décocté aqueux à 10 % a montré le plus grand nombre de spots à cette longueur d'onde.

Tableau XXIV : RESULTAT DE LA CCM SUR LES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum* DANS LE SSTEME BAW (60 :15 :25) APRES REVELATION AVEC LE REACTIF DE GODIN

Révélation	Extraits	Taches	Rf
Réactif de Godin	Décocté aqueux 10 %	Marron	0,13
		Jaunâtre	0,58
		Noirâtre	0,87
	Macéré aqueux	Marron	0,48
		Noirâtre	0,93
		Marron	0,00
	Macéré éthanolique à 80 %	Jaunâtre	0,47
		Noirâtre	0,93
		Marron	0,00
	Extrait méthanolique	Violette	0,47
		Noirâtre	0,97

Les taches de couleur noirâtre ont apparue dans tous nos extraits de façon franche.

Tableau XXV : RESULTAT DE LA CCM DE L'EXTRAIT APOLAIRE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME LIGROINE -ACETATE D'ETHYLE (1:1) APRES OBSERVATION A L'UV 254 nm

Révélation	Extrait	Tache	Rf
UV254nm	Extrait dichlorométhanique	bleue	0,10
		"	0,25
		"	0,86

Trois substances de couleur bleue ont été décelées à cette longueur d'onde.

Tableau XXVI : RESULTAT DE LA CCM DE L'EXTRAIT APOLAIRE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME LIGROINE -ACETATE D'ETHYLE (1 :1) APRES OBSERVATION A L'UV 366 nm.

Révélation	Extrait	Tache	Rf
UV366nm	Extrait dichlorométhanique	blanche	0,0
		"	0,20
		grise	0,50
		"	0.76

A cette longueur d'onde, nous avons observé deux sortes de spots de couleurs bleue et noire.

Tableau XXVII : RESULTAT DE LA CCM DE L'EXTRAIT APOLAIRE D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME LIGROINE -ACETATE D'ETHYLE (1 :1) APRES REVELATION AVEC LE REACTIF DE GODIN

Révélation	Extrait	Tache	Rf
Réactif de Godin	Extrait dichlorométhanique	marron	0,0
		"	0,10
		blanche	0,96

Deux sortes de substances chimiques ont été révélées avec le réactif de Godin.

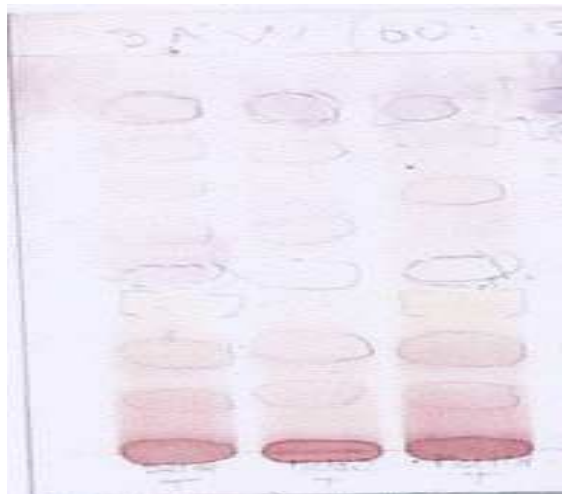


Figure n°11: RESULTAT DE LA CCM APRES REVELATION AVEC LE REACTIF DE GODIN

3.2.2 : Tests biologiques

3.2.2.1 : Détermination de l'activité antioxydante

Le chromatogramme des extraits des écorces de tronc et de racines de *Combretum glutinosum* dans le système de solvants BAW (60 :15 :25) pour les extraits polaires et ligroïne –Acétate d'éthyle (1 :1) pour les extraits apolaires ont été révélés par une solution de DPPH à 2 mg / ml (M/V) dans de l'alcool méthylique. L'apparition de taches de couleur jaune–blanc sur fond violet nous a permis de mettre en évidence la présence de substances à activité anti-radicalaire. Ces substances ont été caractérisées par leur Rf .

3.2.2.1.1 : Test antioxydant sur les extraits d'écorces de tronc de *Combretum glutinosum*

L'extrait dichlorométhane a montré deux taches jaunes sur fond violet aux Rf 0,73 et 0,93.

Tableau XXVIII : RESULTAT DU TEST ANTIOXYDANT SUR CCM REALISE SUR LES EXTRAITS POLAIRES D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME BAW (60 :15 :25) APRES REVELATION PAR LE DPPH

Révélation	Extraits	Taches	Rf
DPPH	Décocté aqueux à 10 %	Jaune sur fond violet	0,10
		"	0,67
		"	0,86
	Macéré aqueux	"	0,13
		"	0,65
		"	0,78
	Macéré éthanolique à 80 %	"	0,06
		"	0,68
	Extrait méthanolique	"	0,26
		"	0,47
		"	0,83

Tous nos extraits ont donné des résultats positifs au test anti-radicalaire. Le décocté aqueux à 10 % a montré le plus de spots.

3.2.2.1.2 : Test antioxydant sur les extraits d'écorces de racines de *Combretum glutinosum*

L'extrait dichlorométhane a montré deux taches jaunes sur fond violet aux Rf 0,78 et 0,88.

Tableau XXIX : RESULTAT DU TEST ANTIOXYDANT SUR CCM REALISE SUR LES EXTRAITS D'ECORCES DE TRONC DE *Combretum glutinosum* DANS LE SYSTEME BAW (60 :15 :25) APRES REVELATION PAR LE DPPH

Révélation	Extraits	Taches	Rf
DPPH	Décocté aqueux à 10 %	Jaune sur fond violet	0,30
		"	0,45
		"	0,97
	Macéré aqueux	"	0,25
		"	0,32
		"	0,97
	Macéré éthanolique à 80 %	"	0,28
		"	0,43
		"	0,97
	Epuisé méthanolique	"	0,13
		"	0,50
		"	0,93

Tous nos extraits ont réagi positivement au test anti-radicalaire. La plus franche positivité a été obtenue avec le décocté aqueux à 10 % des écorces de racines.



Figure n°12: RESULTAT DU TEST ANTIOXYDANT

3.2.2.2: Détermination de l'activité antifongique

Dans nos conditions expérimentales, les extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques et dichlorométhaniques des poudres des écorces de tronc et de racines n'ont présenté aucune activité antifongique à la dose de 600 µg sur les souches cliniques de *Candida albicans* isolées à partir des prélèvements vaginaux. La validité de la procédure a été confirmée par l'activité antifongique manifestée par la nystatine à la dose de 1 µg utilisé comme antifongique de référence, au Rf 0,48.

3.2.2.3 : Détermination de l'activité antibactérienne

3.2.2.3.1 : Test antibactérien sur *Staphylococcus aureus*

Tableau XXX : RESULTATS DU TEST ANTIBACTERIEN DES EXTRAITS DES ECORCES DE TRONC ET DE RACINES DE *Combretum glutinosum* sur *Staphylococcus aureus*

Extraits	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)		Antibiotiques standard	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)
	400 µg	500 µg		
Ecorces de tronc				
Décoté aqueux à 10%	14	15	Céfalotine	24
Macéré aqueux	11	10	Oxacilline	26
Macéré éthanoliques à 80 %	9	10	Chloramphénicol	18
Epuisé dichlorométhane	13	13	Sulfamides	13
Epuisé méthanolique	8	7		
Ecorces de racines				
Décoté aqueux à 10 %	0	0		
Macéré aqueux	7	8		
Macéré éthanoliques à 80 %	9	10		
Extrait dichlorométhane	13	12		
Extrait méthanolique	8	7		

Tous les extraits des écorces de tronc ont inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus* à la dose 500 µg. La plus forte activité a été obtenue avec le décocté aqueux avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 15 mm.

Les extraits des écorces de racines, nous avons obtenu la plus forte activité avec l'extrait dichlorométhane à la dose de 400 µg avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 13 mm.

Pour les antibiotiques standard utilisés dans les mêmes conditions, la plus forte activité a été obtenue avec la céfalotine avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 26 mm.

3.2.2.3.2 : Test antibactérien sur *Escherichia coli***Tableau XXXI :** RESULTAT DU TEST ANTIBACTERIEN DES EXTRAITS DES ECORCES DE TRONC ET DE RACINES DE *Combretum glutinosum* sur *Escherichia coli*

Extraits	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)		Antibiotiques standard	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)
	400 µg	500 µg		
	Ecorces de tronc			
Décocté aqueux à 10 %	8	8	Chloramphénicol	0
Macéré aqueux	0	0	Céfoxitine	21
Macéré éthanolique à 80 %	0	0	Ciprofloxacine	0
Extrait dichlorométhanique	9	10	Tétracycline	0
Extrait méthanolique	7			
Ecorces de racines				
Décocté aqueux à 10 %	0	0		
Macéré aqueux	0	0		
Macéré éthanoliques à 80 %	0	0		
Extrait dichlorométhanique	8	7		
Extrait méthanolique	0	0		

Pour les écorces tronc, trois extraits sur les cinq testés ont manifesté une activité sur *Escherichia coli*. L'extrait dichlorométhane a montré la plus forte activité avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 10 mm à la dose de 400 µg.

Quant aux écorces de racines, seul l'extrait dichlorométhane à la dose de 400 µg a manifesté une activité anti-bactérienne sur *Escherichia coli* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 8 mm.

Sur les quatre antibiotiques standard testés dans les mêmes conditions, seule la céfoxitine a manifesté une activité avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 21 mm.

3.2.2.3.3 : Test antibactérien sur *Salmonella enterica***Tableau XXXII** : RESULTAT DU TEST ANTIBACTERIEN DES EXTRAITS DES ECORCES DE TRONC ET DE RACINES DE *Combretum glutinosum* sur *Salmonella enterica*

Extraits	Diamètres des zones		Antibiotiques standard	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)
	D'inhibition (en mm)			
	400 µg	500 µg		
Ecorces de tronc				
Décocté aqueux à 10 %	0	0	Ciprofloxacine	33
Macéré aqueux	0	0	Amoxicilline	0
Macéré éthanolique à 80 %	0	0	Sulfamide	0
Eextrait dichlorométhanique	20	16		
Extrait méthanolique	0	0		
Ecorces des racines				
Décocté aqueux à 10 %	0	0		
Macéré aqueux	0	0		
Macéré éthanolique à 80 %	0	0		
Epuisé dichlorométhanique	11	12		
Extrait méthanolique	0	0		

Seuls les extraits dichlorométhane des deux organes ont été actifs sur *Salmonella enterica* avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm pour l'extrait DCM des écorces de tronc à la dose de 400 µg et 12 mm pour l'extrait DCM des écorces de racines à la dose de 500 µg. Pour les antibiotiques testés, seul la ciprofloxacine a été actif avec un diamètre de zone d'inhibition de 33 mm.

3.2.2.3.4 : Test antibactérien sur le Streptocoque β hémolytique

Tableau XXXIII : RESULTAT DU TEST ANTIBACTERIEN DES EXTRAITS DES ECORCES DE TRONC ET DE RACINES DE *Combretum glutinosum* sur le Streptocoque β hémolytique

Extraits	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)		Antibiotiques de référence	Diamètres des zones d'inhibition (en mm)
	400 μ g	500 μ g		
Ecorces de tronc				
Décocté aqueux	11	12	Lincomycine	32
Macéré aqueux	10	10	Tétracycline	0
Macéré éthanolique à 80%	10	11	Chloramphénicol	24
Extrait dichlorométhanique	13	13	Pénicilline G	22
Extrait méthanolique	12	9	Erythromycine	33
Ecorces de racines				
Décocté aqueux à 10 %	10	9		
Macéré aqueux	0	0		
Macéré éthanolique à 80 %	8	8		
Extrait dichlorométhanique	9	7		
Extrait méthanolique	8	7		

Tous les extraits des écorces de tronc ont inhibé la croissance du Streptocoque. L'extrait dichlorométhanique à la dose de 400 et 500 μ g a montré la plus forte activité avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 13 mm.

Quant aux extraits d'écorces racines, seul le macéré aqueux n'a été actif. Le décocté aqueux à la dose de 400 μ g a été le plus actif avec un diamètre de zone d'inhibition de 10 mm.

Les plus fortes zones d'inhibition de croissance ont été obtenues avec les antibiotiques de référence dont seule la tétracycline n'a pas été active.

3.2.2.4 : Détermination de l'activité anti-inflammatoire

Tableau XXXIV : VARIATIONS DES VOLUMES MOYENS DANS LE TEMPS DES PATTES DES SOURIS TRAITÉES AVEC LES EXTRAITS AQUEUX DE *Combretum glutinosum*, L'INDOMETACINE ET L'EAU DISTILLÉE

Traitements	Doses	Volumés moyens (ml) dans le temps \pm SD, N = 10					
		To	1 h	2h	3h	4h	5h
Déc aq ET	200 mg/kg	0,123	0,144	0,163	0,135	0,126	0,119
SD ET	-	0,026	0,029	0,040	0,035	0,042	0,032
Déc aq ER	200 mg/kg	0,137	0,194	0,234	0,180	0,166	0,153
SD ER	-	0,021	0,035	0,037	0,034	0,030	0,032
Indom	8 mg/kg	0,124	0,185	0,172	0,152	0,155	0,153
SD Indo	-	0,018	0,011	0,035	0,032	0,027	0,025
Eau dist	0.025 ml/100 g	0,092	0,187	0,186	0,196	0,186	0,165
SD Eau dist	-	0,020	0,040	0,042	0,038	0,031	0,032

Dec aq ET : Décocté aqueux écorces de tronc ;

SD ET : Déviation standard du décocté aqueux des écorces de tronc ;

Déc aq ER : Décocté aqueux écorces de racines ;

SD ER : Déviation standard du décocté aqueux des écorces de racines ;

Indo : Indométacine ;

SD Indo : Déviation standard de l'indométacine ;

Eau dist : Eau distillée ;

SD Eau dist : Déviation standard de l'eau distillée ;

N = nombre de souris par lot.

Le lot qui a reçu de l'eau distillée présente une augmentation significative du volume des pattes contrairement à ceux ayant été traités par l'indométacine et par nos extraits.

Tableau XXXV : POURCENTAGE D'AUGMENTATION DE L'OEDEME DES PATTES DES SOURIS TRAITÉES PAR LES EXTRAITS AQUEUX DE *Combretum glutinosum*, L'INDOMETACINE ET L'EAU DISTILLÉE DANS LE TEMPS

Traitements	Doses	Pourcentage d'augmentation de l'œdème dans le temps (%)				
		1h	2h	3h	4h	5h
Dec aq ET	200 mg/kg	41,18	59,80	32,35	23,53	16,67
Dec aq ET	200 mg/kg	41,61	70,80	31,39	21,17	11,68
Indométacine	200 mg/kg	49,19	38,71	22,58	25,00	23,39
Eau distillée	0,025 ml/100g	103,26	102,17	113,04	102,17	79,35

Dec aq ET : Décocté aqueux écorces de tronc ;

Déc aq ER : Décocté aqueux écorces de racines ;

L'inflammation atteint son pic aux environs de la troisième heure, au bout de laquelle elle commence à diminuer même en l'absence de traitement. L'augmentation de l'œdème est plus significative chez le lot ayant reçu uniquement de l'eau distillée par rapport à ceux ayant reçu les extraits aqueux de *Combretum glutinosum*.

Tableau XXXVI : POURCENTAGE D'INHIBITION DE L'OEDEME DES PATTES DANS LE TEMPS DES SOURIS TRAITÉES PAR LES EXTRAITS AQUEUX DE *Combretum glutinosum* PAR RAPPORT A CELLES TRAITÉES PAR L'INDOMETACINE

Traitements	Doses	Pourcentage d'inhibition de l'œdème dans le temps (%)				
		1h	2h	3h	4h	5h
Dec aq ET*	200 mg/kg	60,12	41,47	71,38	76,97	79,00
Dec aq ET**	200 mg/kg	59,71	30,70	72,23	79,28	85,28
Indométacine***	8 mg/kg	52,36	63,11	80,02	75,53	70,53

Dec aq ET : Décocté aqueux écorces de tronc ;

Déc aq ER : Décocté aqueux écorces de racines ;

*: t student = 0,00014 < 0,01 : très significatif ;

** : t student = 0,00943 < 0,01 : très significatif ;

*** : t student = 0,00011 < 0,01 : très significatif.

L'action anti-inflammatoire de nos extraits semble plus lente à se manifester que celle de l'indométacine. Mais les extraits semblent avoir un effet qui se maintient plus longtemps dans le temps que celui de l'indométacine. L'analyse statistique (test t student) ne montre pas de différence significative entre nos extraits et l'indométacine.

3.2.2.5 : Détermination de l'activité antiplasmodiale

Les résultats du test antiplasmodiale sont consignés dans le tableau... L'activité sur *Plasmodium falciparum* est matérialisée par la concentration inhibitrice 50 (IC₅₀).

Tableau XXXVII : CONCENTRATION INHIBITRICE 50 DES EXTRAITS D'ECORCES DE TRONC ET CEUX D'ECORCES DE RACINES DE *Combretum glutinosum*

Traitements	Valeurs de l'IC ₅₀ µg/ml
Ecorces de tronc	
Décocté aqueux à 10 %	> 20
Macéré aqueux	> 20
Macéré éthanolique à 80 %	> 20
Extrait dichlorométhanique	> 20
Extrait méthanolique	> 20
Ecorces de racines	
Décocté aqueux à 10 %	10,90
Macéré aqueux	8,85
Macéré éthanolique à 80 %	9,13
Epuisé dichlorométhanique	> 20
Extrait méthanolique	7,47
Chloroquine	0,091

L'extrait méthanolique des écorces de racines a été le plus actif avec une IC₅₀ de 7,47 µg/ml, mais demeure moins actif que la chloroquine qui a une IC₅₀ de 0,091 µg/ml.



ANALYSE ET
DISCUSSION

Analyse et discussion

Notre étude nous a permis d'identifier les différents groupes chimiques présents dans les poudres des écorces de tronc et de racines à travers des réactions de caractérisation qui ont été confirmées par la chromatographie sur couche mince, Nous avons également évalué les activités antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire et antiplasmodiale, cela, en nous basant sur les données déjà existantes sur les utilisations traditionnelles de la plante.

Le screening phytochimique des poudres des écorces de tronc et de racines a montré la présence dans les deux organes des groupes chimiques suivants :

- ▶ des tanins avec une prédominance des tanins galliques ; selon Traoré, en 1999, les feuilles renferment 7,002 % de tanins. Ces composés polyphénoliques sont des substances reconnues pour leur propriété antioxydante (Traoré, 1999). Les tanins sont également reconnus pour leur pouvoir de fixation aux protéines avec une tendance à l'imperméabilité des couches externes et la protection des couches sous jacentes, leurs effets antiseptiques et leurs propriétés de renouvellement des tissus pourraient expliquer l'utilisation traditionnelle des feuilles et des écorces de la plante dans le traitement des plaies, des furoncles et des abcès (Kerharo et Adam, 1974 ; Bruneton, 1993 ;) ;
- ▶ des saponosides, avec un indice de mousse de 143,33 pour les écorces de tronc et 500 pour les écorces de racines ; ces substances, comme les tanins, sont présentes dans la plupart des espèces de *Combretum* et peuvent être responsables de l'activité antibactérienne (Kerharo et Adam, 1974 ; Mc Gaw et al., 2001).
- ▶ des leucoanthocyanes : ces substances qui sont des flavonoïdes peuvent justifier en partie l'action diurétique (Pousset, 2004).
- ▶ des polyuronides (mucilages) : selon Hostettmann et al., 1996, les gommes, plusieurs espèces de *Combretum* ont des gommes dont la composition est similaire à celle de la gomme arabique. Les gommes qui sont des polysaccharides assurent la rigidité des parois cellulaires des végétaux supérieurs, et protègent les tissus contre la déshydratation. (Sanogo, 1999).
- ▶ des stérols et triterpènes ;
- ▶ des coumarines.

La présence de coumarines peut conférer à la plante des propriétés anticoagulantes, les triterpènes permettent de lutter contre les inflammations, les holosides peuvent avoir des effets hémostatiques, ce qui justifie l'utilisation traditionnelle du décocté des feuilles de la plante dans le traitement des plaies, des blessures, des anémies et des bronchites (Bruneton, 1993).

La teneur en eau était inférieure à 10 % aussi bien dans les écorces de tronc que dans celles de racines, ce qui justifie une bonne conservation de ces drogues.

Les substances extractibles par l'eau ont été de 45,40 % et 30,31 % respectivement pour les écorces de tronc et celles de racines. Ces substances représentent celles utilisées par la Médecine Traditionnelle car cette dernière n'utilise que l'eau comme solvant d'extraction.

Les cendres totales ont été de 6,32 % et 10,45 % respectivement pour les écorces de tronc et celles de racines. Ces substances renseignent sur la charge minérale des matières végétales.

Quant aux cendres chlorhydriques qui indiquent la contamination de la drogue par des éléments siliceux, elles ont été de 3,20 % et 5,97 % respectivement pour les écorces de tronc et celles de racines. Les cendres sulfuriques qui résultent de la conversion des sels organiques en sulfates ont, quant à elles, été de 5,62 % et 6,21 % respectivement pour les écorces de tronc et celles de racines.

Nous avons réalisé cinq types d'extractions : une macération à l'eau trois fois 24 heures, une macération à l'éthanol à 80 % trois fois 24 heures, une décoction à 10 %, une extraction par épuisement avec le dichlorométhane et une extraction par épuisement avec le méthanol sur les deux organes de plante. Les extraits éthanoliques ont donné les plus forts rendements d'extraction aussi bien pour les écorces de tronc que celles de racines avec respectivement 33,08 % et 20,90 %. Nos plus faibles rendements d'extraction ont été obtenus avec les extraits dichlorométhanes pour les deux organes de plante avec 1,06 % et 1,59 % respectivement pour les écorces de tronc et celles de racines.

Les chromatographies sur couche mince que nous avons effectuées sur les extraits des deux organes nous ont permis de confirmer la présence des différents groupes chimiques identifiés lors des réactions de caractérisation.

Le test antioxydant réalisé sur des plaques CCM a donné de nombreuses taches antiradicalaires. Tous les extraits ont été soumis à ce test et tous y ont positivement réagi. La plus forte activité a été obtenue avec les décoctés aqueux à 10 % des deux organes de plante. Cette activité peut être expliquée par la présence abondante de tanins, de coumarines aussi bien dans les écorces de tronc que celles de racines. En effet, ces substances antioxydantes naturelles rencontrées chez les végétaux, rentrent dans l'arsenal thérapeutique en ce qui concerne la lutte contre l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, l'asthme et les cancers (Chevalley, 2000).

Pour l'évaluation de l'activité antifongique, nous avons utilisé la méthode bioautographique sur plaque CCM (Diallo, 2000). Tous les extraits des deux organes de plante ont été soumis à ce test. Toutefois, dans nos conditions expérimentales, les extraits aqueux, éthanoliques, dichlorométhanés et méthanoliques des deux organes de plante ne présentent pas d'activité antifongique contre les souches cliniques de *Candida albicans* à la dose de 600 µg. Seule la nystatine, médicament antifongique utilisé comme témoin à la dose de 100 µg, a présenté une zone d'inhibition de croissance de *Candida albicans* au Rf 0,48, ce qui confirme la validité de la méthode utilisée. En ce qui concerne les extraits d'écorces de tronc, nos résultats confirment ceux obtenus par Keita, 2002. Cependant, selon le même auteur, les feuilles et les écorces de racines de la plante ont faiblement inhibé la croissance de *Candida albicans* à la dose de 600 µg. Cette activité peut être due à la richesse de la famille des *Combretaceae* en tanins et substances polyphénoliques qui possèdent une activité antimicrobienne (Keita, 2002).

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits, nous avons utilisé la méthode de diffusion en agar. Tous les extraits aqueux, éthanoliques, dichlorométhaniques et méthanoliques des écorces de tronc et de racines ont été soumis au test. Pour le choix des germes à tester, nous nous sommes référés aux données de la littérature pour choisir ceux qui sont les plus rencontrés dans les affections courantes pour lesquelles la plante est utilisée traditionnellement.

Ainsi, sur *Staphylococcus aureus*, tous les extraits d'écorces de tronc se sont montrés actifs. Le décocté aqueux à la dose de 500 µg a manifesté la plus forte activité avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 15 mm. Pour les extraits d'écorces de racines, c'est l'extrait

dichlorométhanique à la dose de 400 µg qui a montré la plus forte activité avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 13 mm.

Sur *Escherichia coli*, à la dose de 400 et 500 µg, le décocté aqueux, les extraits dichlorométhanique et méthanolique des écorces de tronc ont inhibé la croissance du germe. L'extrait dichlorométhanique à la dose de 500 µg a montré la plus forte inhibition de croissance avec un diamètre d'inhibition de 9 mm. Le macéré aqueux et le macéré éthanolique du même organe n'a pas été actif sur le germe. Par ailleurs, seul l'extrait dichlorométhanique des écorces de racines a été actif sur le germe avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 8 mm.

En ce qui concerne *Salmonella enterica*, seuls les extraits dichlorométhaniques des deux organes de plante ont été actifs aussi bien à la dose de 400, qu'à 500 µg. L'épuisé dichlorométhane des écorces de tronc à la dose de 400 µg et celui des écorces de racines à la dose de 500 µg ont été les plus actifs avec respectivement 20 mm et 12 mm de diamètre de zone d'inhibition de croissance.

Le test antibactérien sur le Streptocoque β hémolytique a montré une inhibition de croissance pour tous les extraits des deux organes de plante. Les épuisés dichlorométhanes des deux organes de plante se sont montrés les plus actifs avec des diamètres de zone d'inhibition de croissance de 13 mm pour les écorces de tronc à la dose de 400 µg et 9 mm pour les écorces de racines à la dose de 500 µg.

Nos résultats confirment ceux d'autres auteurs. Ainsi, selon Keita, 2002, Pousset, en 1989, a signalé la propriété antibactérienne des extraits d'écorces de tronc, de tige, de racines, de *Combretum glutinosum* sur le Streptocoque, le Staphylocoque et *Escherichia coli*. Comme nous l'avons dit ci haut, cette activité antibactérienne peut être expliquée par la richesse de la famille des *Combretaceae* en tanins et autres substances polyphénoliques qui confèrent à cette famille une activité antimicrobienne. Les extraits chloroformiques et méthanoliques des feuilles et des tiges ont inhibé la croissance de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, tandis que l'extrait aqueux n'a pas été actif (Hostettmann et al., 1996 ; Almogboul et al., 1998 in Keita, 2002).

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de nos extraits, nous avons utilisé la technique de l'œdème de la patte de la souris provoqué par la carraghénine. Les décoctés aqueux des deux organes de plante ont été soumis à ce test à la dose de 200 mg/kg. Dans nos conditions

expérimentales, l'activité anti-inflammatoire de nos extraits a été significative à partir de la troisième heure avec un pourcentage d'inhibition de l'œdème de 71,38 % et 72,23 % respectivement pour le décocté aqueux des écorces de tronc et celui des écorces de racines. L'activité a atteint son pic à la cinquième heure pour les deux extraits avec un pourcentage d'inhibition de l'œdème de 97 % pour le décocté aqueux des écorces de tronc et 85,28 % pour le décocté aqueux des écorces de racines. L'indométacine, utilisée comme anti-inflammatoire standard à la dose 8 mg/kg a montré sa plus significative activité à la troisième heure, soit un pourcentage d'inhibition de l'œdème de 85,02 %.

Par ailleurs, nous avons utilisé le test t student pour l'analyse statistique de nos résultats. Ainsi, nous avons comparé les résultats des lots de souris traitées par nos extraits avec le lot de souris traitées par l'indométacine. Nous avons constaté que nos résultats ont été statistiquement significatifs de la première à la cinquième heure de l'expérimentation. Cela nous permet de dire que nos extraits présentent une réelle activité anti-inflammatoire à la dose utilisée.

Au cours du screening phytochimique sur la poudre des écorces de tronc et celle des écorces de racines, nous avons constaté la présence dans les deux organes, de saponosides, de stéroïdes et triterpènes. selon Bruneton, ces composés sont doués d'activité anti-inflammatoire et anti-œdémateuse (Bruneton, 1993). Par ailleurs, nos résultats sont en conformité avec ceux d'autres auteurs qui ont travaillé sur l'activité anti-inflammatoire des espèces de la famille des *Combretaceae*. Ainsi, Mc Gaw et *al.*, ont testé avec succès une vingtaine d'espèces de cette famille pour cette activité (Mc Gaw et *al.*, 2001).

Ces résultats justifient les utilisations traditionnelles de *Combretum glutinosum* dans le traitement des affections courantes telles que les plaies et blessures, les bronchites, les troubles urinaires, la blennorragie, les pneumonies.

L'évaluation de l'activité antiplasmodiale de nos extraits a été faite sur une souche de *Plasmodium falciparum in vitro* résistante à la chloroquine et à la pyriméthamine. Le décocté aqueux, le macéré aqueux, le macéré éthanolique à 80 %, les extraits dichlorométhaniques et méthanoliques des deux organes de plante ont été soumis à ce test. Les extraits des écorces de racines ont été plus actifs que ceux d'écorces de tronc. L'extrait méthanolique a été le plus actif, suivi du macéré aqueux, du macéré éthanolique à 80 %, du décocté à 10 % et enfin de l'extrait

dichlorométhanique avec des concentrations inhibitrices 50 respectives de 7,47, 8,85, 9,13 10,90 ; et > 20 µg/ml.

La chloroquine, antipaludéen standard, utilisée à la concentration maximale de 200 ng/ml a été plus active que nos extraits avec une CI₅₀ de 0,091 µg/ml. Le plus actif de nos extraits a été l'épuisé méthanolique des écorces de racines avec une CI₅₀ de 7,47 ng/ml.

Dans nos conditions expérimentales, le décocté aqueux des écorces de racines, avec une CI₅₀ de 10,90 µg/ml, a été plus efficace que celui du malarial qui a une CI₅₀ de 600 µg/ml, ainsi que ses constituants. En effet, les décoctés aqueux de *Cassia occidentali* L., *Lippia chevalieri* Mold., et *Spilantes oleraceae* Jacq ont des CI₅₀ respectives de 660, 180 et 300 µg/ml.

L'utilisation traditionnelle de *Combretum glutinosum* dans le traitement de la fièvre, l'ictère, l'anémie (Malgras, 1992), qui sont des symptômes du paludisme, serait ainsi justifiée.



CONCLUSION

Conclusion

Notre étude réalisée au Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) de Bamako nous a permis de mettre en évidence la présence des différents groupes chimiques dans les poudres des écorces de tronc et celle de racines de *Combretum glutinosum* ainsi que l'évaluation des activités biologiques de la plante.

Les études phytochimiques ont montré la présence dans les deux organes de plante, de tanins, de stérols et triterpènes, des leucoanthocyanes, des mucilages, de saponosides, des coumarines, ce qui a été confirmé par la chromatographie sur couche mince.

Au cours des extractions, les plus forts rendements ont été obtenus avec les extraits éthanoliques aussi bien pour les écorces de tronc que pour celles de racine avec respectivement 33,08 % et 20,90 %. Les dichlorométhaniques ont donné les plus faibles rendements d'extraction avec 1,06 % et 1,59 % respectivement pour les écorces de tronc et celles de racines.

Tous les extraits des deux organes de plante se sont montrés actifs sur le DPPH. Les décoctés aqueux à 10 % ont été les plus actifs.

L'extrait dichlorométhanique des écorces de tronc, à la dose de 400 µg, a montré la plus grande efficacité sur *Salmonella enterica* avec un diamètre d'inhibition de croissance de 20 mm.

L'activité anti-inflammatoire des décoctés aqueux des deux organes de plantes, à la dose de 200 mg/kg de poids corporel, se manifeste de manière significative dès la troisième heure de l'expérimentation et atteint son pic à la cinquième heure, soit 79,00 % et 85,28 % d'inhibition de l'oedème respectivement pour le décocté aqueux des écorces de tronc et celui des écorces de racines.

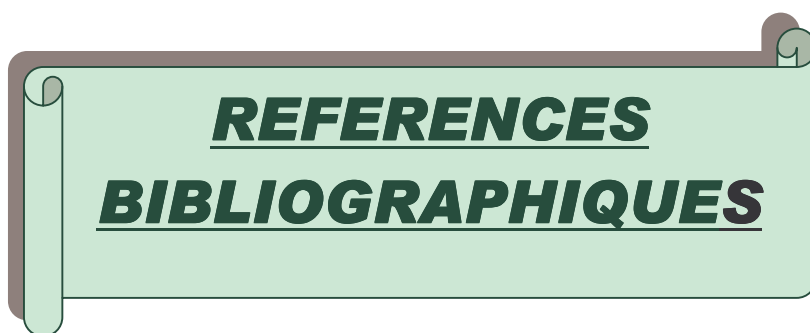
Pour ce qui est de l'activité antiplasmodiale sur *Plasmodium falciparum*, c'est l'épuisé méthanolique des écorces de racines qui a été le plus actif de nos extraits avec une CI₅₀ de 7,47 µg/ml.

Ainsi donc, notre travail nous a permis de confirmer les utilisations traditionnelles de *Combretum glutinosum* dans le traitement des affections courantes. Il serait toutefois intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques sur cette plante afin d'isoler les molécules responsables des activités observées, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes, à moindre coût, pour une population africaine à faible

pouvoir économique et qui, de surcroît, est très sensible à une valorisation de sa médecine traditionnelle.

D'ores et déjà, nous venons de prouver une fois de plus, que les plantes médicinales africaines regorgent d'énormes potentialités thérapeutiques vérifiables par des méthodes simples et fiables sur le plan scientifique.

Nous invitons enfin les populations à une utilisation à bon escient des plantes médicinales, car un usage abusif de ces plantes conduira sans doute à une raréfaction, voire leur totale disparition.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- 1. Adjanohoun E.J., Alyi A., Aké Assi L., Dan Dicko L., Daouda H., Delmas M., Souza de S., Garba M., Guinko S., Kayonga A., N’Golo D., Raynal J.L., Saadou M. (1981).** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. Médecine Traditionnelle et pharmacopée. ACCT Ed, Paris, 250 p
- 2. Adjanohoun E.A., Aké Assi L., Floret J.J., Guinko S., Koumaré M., Raynal J.A.M. (1973).** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. Médecine Traditionnelle et pharmacopée. ACCT Ed, Paris, 267 p
- 3. Adjanohoun E.J., Ahyi E., Aké Assi L., Baniaka J., Chibon P., Cusset G., Doulou V., Enza A., Eymé J., Gondoté E., Keita A., Mbenga C., Mollet J., et coll. (1985).** Contribution aux études ethnobotanique et floristique au Congo. Médecine Traditionnelle et pharmacopée. ACCT Ed., Paris, 97p
- 4. Ahmet S. (2003).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (*Balanitaceae*). Thèse de pharmacie, Bamako, 112 p
- 5. Akino J., Pousset J. L., Bodo B. (1994).** Combreglutinin, a hydrolysable tannin from *Combretum glutinosum*. Journal of Natural Products. Vol **57**, N° **6**, pp 732 – 737
- 6. Almogboul A.Z., Bashr A.K., Karim A., Salih L. (1988).** Antimicrobial activity of certain sudanese plants used in folkloric medicine. Screening and antibacterial activity. Fitoterapia **5**, pp 57-62.
- 7. Anderson C.M., Halleberg A., et Hogberg T. (1996).** Advances in the development of pharmaceutical antioxydants. Adv. Drug. Res. **28**, pp 65-180

- 8. Astor Gerard, Von Massow Friedrich, Hans Wilhelm Rauwald, der Johann Wolfgang, Erika Daviet (1992).** Pharmacopée nationale des plantes traditionnelles du Niger, GTZ, 47 p
- 9. Bors W., Heller W., Michel C., et Saran M. (1990).** Flavonoids as antioxidants determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods enzymol*, **186**, pp 343-355
- 10. Bossokpi I.P.L. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam (*Rutaceae*). Thèse de pharmacie, Bamako, 133p, 01p 03
- 11. Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Ed .2, Lavoisier, Paris, 895 p
- 12. Bruneton J. (2002).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Ed. 3, Lavoisier, Paris, 1095 p
- 13. Burkill H.M. (1985).** The useful plants of west tropical Africa. Vol. **1**, Royal botanic gardens kew, 777 p
- 14. Burkill H.M. (1997).** The useful plants of West Tropical Africa. Ed. 1, The trustess of Royal Botanic Gardens, Kiew, 969 p
- 15. Cavin A. (1999).** Investigation phytochimique des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et anti-radicalaires : *Tinospora crisp* (*Menispermaceae*), *Merremia emarginata* (*Convolvulaceae*), et *Orepheia eneandra* (*Annonaceae*). Thèse de doctorat, Lausanne, 243 p
- 16. Chevaley I. (2000).** Contribution à l'étude des phytochimique des Saxifragacées, isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stelleris* L. et *Saxifraga cuneifolia* L et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de doctorat, Lausanne, 175 p
- 17. Coyen Y. (1981).** Abrégés de pharmacologie. Ed. 4, Masson, Paris, pp 349-355

18. Creté P. (1965). Précis de botanique. Systématique des angiospermes. Tome II, Ed 2 révisée, Faculté de pharmacie, Paris Masson, 429 p

19. Diallo D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (*Aizoaceae*), *Diospyros abyssinica* (*Ebenaceae*), *Entada africana* (*Mimosaceae*), *Trichilia emtica* (*Meliaceae*). Thèse de doctorat, Lausanne, 221 p

20. Diallo D., Hveem., Mohamed Ag M., Berge G., Paulsen B. S., Maïga A. (1993). An ethnobotanical survey of drugs of Gourma District, Mali. *Pharmaceutical Biology in International Journal of Pharmacognosy*. Vol 37, n° 1, pp 80 - 91

21. Ekoumou C. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de pharmacie, Bamako, 144 p

22. Elizabeth M., Okpako D., Evans F.J. (1996). Anti-inflammatory and analgesic activity. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. *Pharmacological methods in phytotherapy research*. Ed. Wiley, England, 131-154

23. Enda Tiers monde (2003). Reconnaissez, protégez et utilisez les plantes sûres et efficaces : www.enda.sn/plantesmed/combretum.html

24. Hostettmann K. (1997). Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse, 235 p

25. Hostettmann K. (2001). Tout savoir sur les plantes médicinales des montagnes. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse, 121 p

- 26. Hostettmann K., Chinyanganya, Maillard., Woldfender J. L. (1996).** Chemistry, biological and pharmacological properties of african medicinal plants, University of Zimbabwe Publications, Harare, 327 p, pp 121-139
- 27. Institut Pasteur (2004). Le paludisme:** www.pasteur.fr/actu/presse/infos/paludisme.html
- 28. Kamaté B. (1998).** Etude botanique et phytochimique de *Combretum micranthum* G. Don (*Combretaceae*). Thèse de pharmacie, Bamako, 65 p, 98 p 34
- 29. Kanta F.B. (2000).** Etude de l'activité anticandidosique de certaines plantes médicinales maliennes sur *Candida albicans*. Thèse de pharmacie, Bamako, 81 p
- 30. Keita R. M. (2002).** Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de 14 plantes utilisées dans le traitement des I.S.T. Thèse de pharmacie, Bamako, 130 p
- 31. Kerharo J. et Adam J. G. (1974).** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot Frère, Paris, 1011 p, pp 343-345
- 32. Krinsky N.I. (1989).** Antioxydant functions of carotenoids. Free radicals. Bio. Med. **7**, pp 617-635
- 33. Madhavavi D. L. Deshpandle S. et Salunkle D. K. (1996).** Food antioxydants technological, toxicological and health perspectives. Ed. Marcel Dekker, New York, 101 p
- 34. Malgras D. (1992).** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Ed. Karthala et ACCT, 478 p, pp 128-129
- 35. Maydell Von H. J. (1980).** Arbres et arbustes du Sahel : leurs caractéristiques et usages. Ed. GTZ n° **147**, pp 212-213

- 36. Mc Gaw L. J., Rabe T., Sparg S. G., Jäger A. K., Eloff. J. N., Van Staden J. (2001).** An investigation on the biological activity of *Combretum* species. *Journal of ethnopharmacology* **75**, pp 45 – 50.
- 37. Michels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J. (1994).** Importance of seglutahione perioxydase, catalase and Cu/ Zn SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical. Bio. Med.* **17**, pp 235-248
- 38. Neuwinger H. D. (1996).** African ethnobotany, poison and drug. Chemistry- pharmacology, toxicology. Ed. Chapman, Germany, 435 p
- 39. N Gaba J., Olschwang D., Giono – Barber H., Pousset J. L. (1980).** Plantes médicinales africaines III. Etude de l'action antitussive de *Combretum glutinosum* Perr. *Annales pharmaceutiques françaises*, Vol. **38**, N° **6**, pp 529 – 536.
- 40. Paulsen B. S. (2000).** Bioactive carbohydrate polymers. Kluwer Academic Publisher. Oslo, 147p
- 41. Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J. O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme* **16**, pp 233 – 339.
- 42. Pousset J. L. (2004).** Plantes médicinales d'Afrique. Comment les reconnaître et les utiliser? Edisud, Aix-en-Provence, 287p
- 43. Salvi A. (1998).** Esterase – like activity of human serum albumin: pharmacokinetic signifiante, loss by free radical attack, and protection by antioxidants. Thèse de doctorat, Lausanne
- 44. Sanogo A. (1999).** Contribution à l'étude phytochimique des gommés et leur commercialisation au Mali. Thèse de pharmacie, Bamako, 91 p.

- 45. Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A. and Sakata K. (1994).** A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Brusci, Brotech-Brochem* **58**, pp 1780-1783
- 46. Togola A. (2002).** Etude de la phytochimie et de l'activité antipaludique de *Alchornea cordifolia* Schmach (*Euphorbiaceae*). Thèse de pharmacie, Bamako, 76 p.
- 47. Traoré C.M. L. (1999).** Contribution à l'étude des *Combretaceae* médicinales du Mali. Thèse de pharmacie, Bamako, 99 p 38, 165 p
- 48. Traoré D. (1983).** Médecine et magie africaines. Ed. Présence Africaine, Paris, 569 p
- 49. Valnet J. (2001).** Phytothérapie. Ed. 6. Vigot, Paris, 701 p.



ANNEXES

Annexes :**Annexe1 : Composition des réactifs****► Réactif de MAYER**

Iodure de potassium.....	25 g
Chlorure mercurique.....	6,77 g
Eau distillée q s p.....	50 ml

► Réactif de DRAGENDORFF

Nitrate de bismuth pulvérisé.....	20,80 g
Iode.....	38,10 g
Iodure de sodium anhydre.....	200 g
Eau distillée q s p.....	1000 ml
Agiter pendant 30 mn	

► Réactif de GUIGNARD (Papier picrosodé)

Acide picrique.....	1 g
Carbonate de sodium.....	10 g
Eau distillée q s p.....	100 ml

► Réactif de KEEDE

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....	1 g
Ethanol à 95° alcoolique q s p.....	100 ml

► Réactif de RAYMOND MARTHOUD

1,3 dinitrobenzène.....	1 g
Ethanol à 96° alcoolique q s p.....	100 ml

► Réactif de BALJET

Acide picrique.....	1 g
Ethanol à 50° alcoolique q s p.....	100 ml

► Réactif de FEHLING**Solution A :**

CuSO ₄	35 g
Eau distillée.....	500 ml

H₂SO₄5 ml

Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

Solution B :

Sel de Seignette.....150 g

Eau distillée.....500 ml

Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée à 1 litre avec de l'eau distillée.

NB : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.

► **Réactif de GODIN**

Solution A :

Vanilline.....1 g

Ethanol à 95° alcoolique.....1000 ml

Solution B

Acide perchlorique.....3 ml

Eau distillée.....100 ml

Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM avec une solution de H₂SO₄ à 4 %.

► **Réactif du DPPH**

1,1 diphényl 2 picrylhydrazyle en solution méthanolique à 2 mg / ml (M / V).

Annexe2 : Formule pour la nutrition des souris

Pour des raisons pratiques, la formule est calculée à 100 kg d'aliments, ce qui permet d'exprimer les composants et les apports nutritifs en pourcentage :

Farine de maïs.....	50 kg
Pâte d'arachide.....	20 kg
Son de mil.....	17,5 kg
Lait en poudre.....	3 kg
Farine de poisson.....	7 kg
Feuilles de salade pilées.....	2 kg
Sel gemme.....	0,5 kg
Eau q s p 100 kg.....	38 l.

Fiche signalétique

<u>Auteur:</u>	Boubacar Souley AMADOU
<u>Titre :</u>	Etude de la phytochimie et des activités biologiques de <i>Combretum glutinosum</i> Perr. ex DC. (Combretaceae)
<u>Année universitaire :</u>	2004 - 2005
<u>Pays d'origine :</u>	République du Niger
<u>Ville de soutenance :</u>	Bamako (République du Mali)
<u>Lieu de dépôt :</u>	Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako
<u>Secteurs d'intérêt :</u>	Pharmacognosie, Médecine traditionnelle.

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum*, plante utilisée en Afrique dans le traitement des affections courantes.

Le screening phytochimique réalisé sur les poudres des écorces de tronc et de racines a permis de mettre en évidence des groupes chimiques susceptibles de justifier les utilisations traditionnelles de la plante.

Tous les extraits des deux organes de plante ont réagi positivement au test antiradicalaire contre le 1, 1' diphényl 2 picryl hydrazyle.

L'extrait dichlorométhanique des écorces de tronc, à la dose de 400 µg, a montré une action antibactérienne intéressante sur *Salmonella enterica* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 20 mm.

L'activité anti-inflammatoire des décoctés aqueux des deux organes de plante, à la dose de 200 mg/kg de poids corporel, est comparable à celle de l'indométacine à la dose de 8 mg/kg.

L'extrait méthanolique des écorces de racines a montré la plus forte activité antiplasmodiale sur *Plasmodium falciparum* avec une concentration inhibitrice 50 de 7,47 µg/ml.

Mots clés : pharmacognosie, médecine traditionnelle, *Combretum glutinosum*, screening phytochimique, antioxydante, antifongique, antibactérienne, anti-inflammatoire, antiplasmodiale.

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, mai aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

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

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

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

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

Je le jure!