

MINISTRE DE L'ÉDUCATION
NATIONNALE

.....
UNIVERSITÉ DE BAMAKO

.....
FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE
ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi



Année Scolaire: 2004 – 2005

N°...

TITRE:

**ETUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DES ACTIVITÉS
BIOLOGIQUES DE *Syzygium guineense* WILLD.
(MYRTACEAE)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le...janvier 2005 devant la Faculté de Médecine, de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali.

Par

Monsieur Amadou DIALLO
Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie
(DIPLÔME D'ÉTAT)

Jury

PRESIDENT

MEMBRES

DIRECTEUR DE THESE

Professeur Moussa HARAMA

Docteur Elimane MARIKO

Docteur Rokia SANOGO

Professeur Drissa DIALLO



INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent. (Marc, 2001).

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) (Adjanooun et coll, 2001).

Par ailleurs, selon l'O.M.S, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle.

En 2004, près de 75% de la population africaine a recours aux plantes qui l'entourent pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits modernes (Pousset, 1989).

Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances différentes, on peut se rendre compte de la richesse naturelle du règne végétal.

Dans le contexte socio-économique des pays en voie de développement, l'étude des plantes peut aboutir à l'obtention de réponses thérapeutiques adéquates et de faible prix, joignant à une efficacité scientifique prouvée et une acceptabilité culturelle optimale.

La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit conduire notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes.

Les mots clés, dans ce domaine, doivent être : sécurité, efficacité et qualité.

L'ensoleillement, la pollution (auto, industrialisation) et la consommation de cigarettes peuvent provoquer dans l'organisme des substances qui sont appelées radicaux libres. Un radical libre est une molécule indépendante ayant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa dernière couche. L'oxydation de ces radicaux libres peut favoriser le développement de certaines maladies comme l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, la neurodégénération (Muller, 1993 ; Harman, 1992).

Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Potterat et Hostettmann, 1995).

De multiples études, certes dispersées, ont été faites sur les plantes médicinales ce qui dénote toute l'importance accordée à la médecine traditionnelle dans la politique sanitaire de notre

pays. Toutefois, une approche dynamique de ce système curatif traditionnel visant à saisir son mécanisme d'adaptation et de résistance aux différentes transformations socioéconomiques n'a pas encore été faite.

Au Mali l'exemple illustre est celui du Département de Médecine Traditionnel (D.M.T) ; qui est un département de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (I.N.R.S.P), où pour le moment sept Médicaments Traditionnels Améliorés (M.T.A) sont produits et commercialisés dans les officines (Diallo, 2000).

L'athérosclérose, considéré comme une inflammation chronique de l'intima des vaisseaux, fait partie des premières causes de mortalité dans les pays industrialisés. La réaction inflammatoire d'origine infectieuse ou non peut entraîner un état de choc avec défaillance multi-viscérale qui engage le pronostic vital (Timbo, 2003).

Ces affections qui englobent la fièvre et la douleur sont d'une très grande diversité, qui en absence d'un traitement efficace évoluent vers une chronicité d'où la nécessité de rechercher et de mettre au point des médicaments anti-inflammatoires accessibles par tous.

Syzygium guineense Willd de la famille des Myrtacées est utilisé dans le traitement des maladies diarrhéiques (écorces de tronc) ; l'activité anti-bactérienne de ces extraits ont été démontrée sur des souches des microorganismes suivants : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis*, *Sigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*. Ces extraits ont également révélé une activité sur des souches d'*Entamoeba histolytica* de type 1 et 2 (Adjanohoun et coll, 2001).

C'est une plante utilisée dans le traitement de la fièvre et dans la malnutrition. Elle est caractéristique des rivières et des forêts galeries en zone soudano-guineene (Denis, 1992) dont l'étude phytochimique et des activités biologiques de la poudre de feuilles fait l'objet de notre travail.

Motivations

Ce travail a été motivé par :

- La revalorisation des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle en vue de la formulation de médicaments traditionnels améliorés.

- Les multiples pathologies douloureuses, abdominales, inflammatoires et infectieuses sont parmi les motifs de consultations fréquentes en Afrique du fait d'un environnement écologique favorable au développement d'agents contaminant (chaleur, humidité, eaux stagnantes).

- La nécessité de faciliter l'accès des populations à des médicaments de moindre coût compte tenu du prix élevé des médicaments conventionnels.

- L'existence sur le plan national de peu de travaux phytochimiques et pharmacologiques sur *Syzygium guineense* Willd.

- Les utilisations traditionnelles de cette dans le traitement de la fièvre et la malnutrition.

- La contribution à l'étude de la toxicité de cette plante.

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL

- ❖ Etudier la phytochimie et les activités biologiques de *Syzygium guineense*.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Identifier les différents groupes chimiques présents dans les feuilles de *Syzygium guineense*,
- Déterminer l'effet du décocté aqueux des feuilles de la plante sur le métabolisme et certains paramètres biologiques de la souris,
- Déterminer l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, hydro-alcooliques et organiques de feuilles de *Syzygium guineense*,
- Déterminer l'activité anti-inflammatoire du décocté aqueux des feuilles de *Syzygium guineense*,
- Déterminer la toxicité aiguë du décocté aqueux des feuilles de *Syzygium guineense*.



**TRAVAUX
ANTERIEURS**

1 Monographie de *Syzygium guineense* Var. *Guineense* (Willd.):

Synonyme: *Calyptanthes guineensis* (Willd.)

Noms vernaculaires: (kisa d'eau)

Bambara: kôkisa, kuri, konyume.

Malinké: kôkisa

Minyanka: dugutaga

Serere: sukomon (Wagbo Vananga)

Bobo: dibi

Dogon: alukile.

1-1 Position systématique (Crêtée, 1965) :

Règne	végétal
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>guineense</i>

1-2 Description botanique (Kerharo et Adams, 1974) :

C'est une plante appartenant à la famille des Myrtacées, cette famille a plus de 500 espèces.

Elle est très aromatique et riche en essences.

Syzygium guineense est un arbre de 12 à 15 m de hauteur, à fus robuste et rarement droit, il possède des basses branches avec des rameaux à extrémités retombantes ; les écorces sont foncées, rugueuses, un peu striée, se détachant par petites plaques (**Figure n°1**).

Les feuilles sont elliptiques ou oblongues, cunées à la base, et acuminées au sommet de 11 cm sur 4,5 cm; les nervures latérales sont unies avant le bord du limbe (**Figure n°1**).

Les cymes sont terminales de fleurs blanches de 5 mm de diamètre.

Les baies, de 1 cm long sont de forme ellipsoïde, de couleur violet foncée à maturité.



Photo plante entière de *Syzygium guineense*



Rameaux feuillés de *Syzygium guineense*

Figure n°1 : Photos plante entière et rameaux feuillés

1-3 Habitats :

C'est une plante commune en Casamance maritime le long des marécages et dans les sols humides côtiers. Elle est fréquente sur les berges des affluents de la Gambie. Au Mali cette plante se trouve sur les berges du fleuve Niger et dans les galeries forestières en zone soudano-guineenne.

1-4 Cycle végétatif :

Feuillage permanent, fleurit de mars en avril, les fruits sont mûrs en mai – juin (Denis, 1992).

1-5 Utilisations traditionnelles :

Syzygium, bien que signalé dans diverses régions, est d'utilisation peu courante. Les écorces sont légèrement antidiarrhéiques et l'absorption régulière du macéré d'écorces et de feuilles est recommandée aux femmes durant la gestation, plus particulièrement lorsqu'elles sont atteintes des maux de ventre. (Kerharo et Adams, 1974).

- Les racines bouillies en association avec celles de *Combretum glutinosum* et de *Bombax costatum* sont utilisées pour aider un enfant à marcher.

La décoction des racines est utilisée dans la cirrhose du foie ;

- La décoction de l'écorce sert à rincer la bouche en cas de stomatite. La potion est utilisée contre les diarrhées.
- Le macéré d'écorces et de feuilles dans l'eau sert de boisson pour aider les femmes en gestation.

Les écorces riches en tanin, servent pour la préparation des peaux.

- Feuilles et rameaux feuillés :

Les feuilles en décoction sont utilisées comme fortifiant par voie orale;

Les rameaux feuillus en décoction sont utilisés en fumigation contre les ankylostomes ;

- Le gui est utilisé en décoction comme bain oculaire lutte contre la cataracte (Denis, 1992).

1-6 Chimie :

L'espèce Congolaise *S. owariense* Bent, souvent confondue par les botanistes avec *S. guineense*, (Degant, 1920) a donné les pourcentages dans les feuilles sèches de cendres (5,85), albuminoïdes (9,35), cellulose (30,65), et l'extrait éthéré (11,35). La recherche des alcaloïdes a été négative.

Données pharmacologiques :

Les études ont démontré l'activité antibactérienne des extraits de *Syzygium guineense* sur des souches de microorganismes suivants :

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*.

Les mêmes extraits ont également montré une activité sur les souches d'*Etmamoeba histolitica* de type 1 et 2 (Adjanooum et coll, 2001).

LES ANTIOXYDANTS

1 Généralités sur les antioxydants :

Le concept selon lequel l'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés tel que les radicaux libres, est encore mal perçu dans le milieu médical. Pourtant, de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose et la cancérogenèse. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés d'enzymes (la glutathion peroxydase), de vitamines (A,C,E), d'oligo-éléments (le sélénium), de protéines (la ferritine). En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO. Un stress surviendra lorsqu'il y aura un déséquilibre dans cette balance prooxydants/antioxydants en faveur des ERO. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie (le tabagisme), ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. Déterminer le statut de stress oxydant d'un individu devient donc un sujet de priorité en termes de prévention de maladies. Ceci se justifie sur la base de très nombreuses études montrant que les personnes ayant des concentrations sanguines faibles en antioxydants (vitamines A, C ou E) ou des concentrations élevées en marqueurs d'oxydation des lipides ou de l'ADN, ont plus de risques de développer des maladies cardiovasculaires ou un cancer que des personnes ayant un bilan antioxydant normal résultant d'une alimentation équilibrée en fruits et légumes. Sur base de bilans sanguins perturbés, prendre des compléments en antioxydants à des doses physiologiques pourra donc se justifier à condition que ceci soit réalisé sous un contrôle médical strict. (Joël et coll, 2002).

Au niveau médical, les vitamines C et E tout comme les oligo-éléments, ont été et sont encore maintenant considérés comme des molécules permettant de lutter contre un état de fatigue. Actuellement, il est toujours très difficile de convaincre le milieu médical du rôle potentiel que peuvent jouer ces vitamines comme antioxydants dans la prévention de différentes maladies. Ceci est pourtant connu de longue date. En 1960 le célèbre chercheur français Henry Laborit attirait déjà l'attention sur la toxicité de l'oxygène pressurisé et préconisait l'usage d'antioxydants comme agents protecteurs (Laborit et coll, 1960).

En 1968, le Food and Nutrition Board aux Etats-Unis reconnaissait la vitamine E comme étant une molécule essentielle en vertu de ses propriétés antioxydantes. L'implication des antioxydants dans notre vie de tous les jours a véritablement pris son essor lorsque les Américains McCord et Fridovich isolent en 1969 la SOD, enzyme capable de détruire l'anion superoxyde (McCord et Fridovich, 1969). Malgré un nombre incalculable de travaux scientifiques de haute qualité, il faudra attendre ce début de nouveau millénaire pour que l'importance des antioxydants soit reconnue en matière de médecine de prévention. L'avènement de la biologie moléculaire nous permettra par ailleurs de découvrir d'autres faces cachées de ces antioxydants.

Bien qu'étant anti-oxydants, les flavonoides ont des effets pro-oxydants sur les protéines, sur la peroxydation des lipides et sur l'ADN.

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

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

L'origine des radicaux est diverse : tout d'abord, la pollution de notre environnement peut générer la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Une bouffée de cigarette contient environ 10^{14} radicaux. Ces mêmes cigarettes contiennent également des traces d'ions métalliques qui peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour former des radicaux hydroxyles.

Les antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention de certaines maladies telles que les cancers et les maladies cardiovasculaires.

2 Types d'antioxydants (Keïta, 2002) :

Il existe deux catégories d'antioxydants :

Les séquestrants de métaux et les phagocytes de radical libre. Les séquestrants de métaux précipitent un métal ou suppriment sa réactivité en occupant tous les sites de coordination ; les phagocytes de radical libre comprennent l'hydroxytoluène butylaté (BHT), l'hydroxyanisole butylaté (BAT), les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C).

3 Les sources d'antioxydants :

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

3-1 Médicaments :

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes :

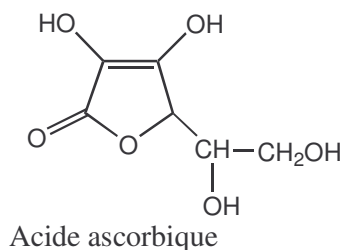
AINS : Le mécanisme d'action commun de tous les AINS est la diminution de la production de prostaglandines du fait de l'inhibition de la cyclo-oxygénase.

Antihypertenseurs : Ils agissent en inhibant la réabsorption des ions Na^+ et Cl^- à différents niveaux.

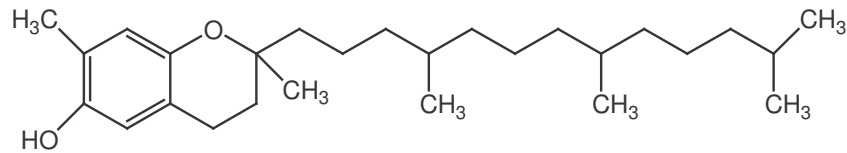
Le probucol par exemple est un médicament qui en plus de ses effets reconnus dans la baisse de cholestérol, prévient l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL).

3-2 Source alimentaire : Certaines substances ingérées sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement : la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le β -carotène.

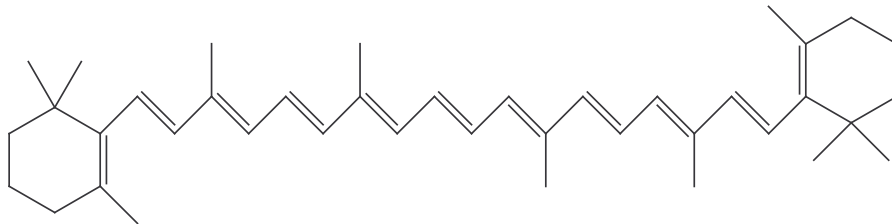
- **La vitamine C ou acide ascorbique :** C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes. (Colette, 2003).



- **La vitamine E ou tocophérol :** prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Ahmet, 2003).

**n-tocophérol**

- **Le sélénium :** C'est l'oligo-élément le plus « à la mode » pour ses propriétés antioxydantes avérées. Jadis comme un toxique, ses effets bénéfiques sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (Ahmet, 2003)
- **Le β -carotène :** outre l'activité pro vitaminique A, possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes. (Ahmet, 2003).

 **β -carotène**

3-3 Antioxydants naturels :

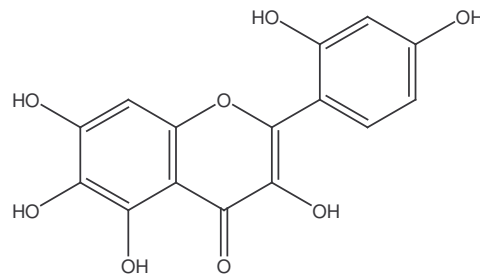
En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importants, nous pouvons citer l'ail (*Allium sativum* L ; *Liliaceae*) et le ginkgo (*Ginkgo biloba* L ; *Ginkgoaceae*) qui sont utilisés dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et circulatoires dues au vieillissement (Igor, 2002).

▪ **Les flavonoïdes :**

Présentes dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsable dans la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et anti virales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie.

Des flavonoïdes comme l'héspéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le Sarrasin et le Citronnier, renforcent les parois capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins.

Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Igor, 2002).

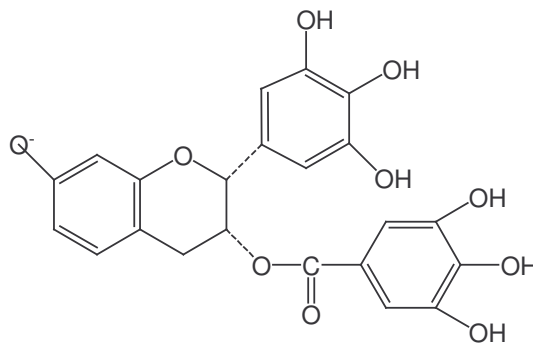


Morine

▪ **Les tanins :**

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Domart, 1981).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (Cavin, 1999).

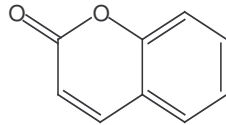


Gallate d'épigalocatéchine

▪ **Les coumarines :**

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses.

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoides (Igor, 2002).

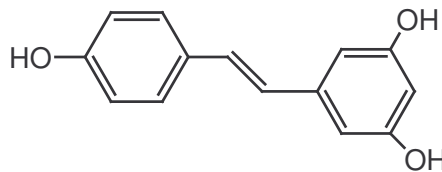


Coumarine

▪ **Les phénols :**

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales.

Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin possède de fortes propriétés antioxydantes (Igor, 2002).

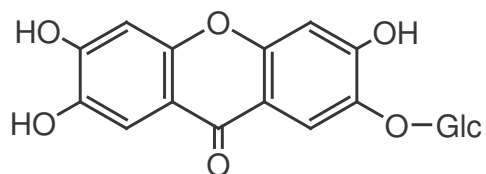


Resvératrol

▪ **Les xanthones :**

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthones sont essentiellement : leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase (Sidibé, 2003).

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

**Manguiférine**

4 Quelques plantes à activité antioxydante (Keïta, 2002) :

Tableau n°1 : Quelques plantes à activité antioxydante

Plantes	Partie utilisée	Famille
<i>Diopyros abyssinica</i> Hiem.f.W	Feuilles	<i>Ebenaceae</i>
<i>Psorospermum guineense</i> Spach.	Feuilles	<i>Hypericaceae</i>
<i>Burkea africana</i> Hook.	écorces tronc	<i>Caesalpiniaceae</i>
<i>Cussonia barteri</i> Seenm.	écorces racines	<i>Ceasalpinaceae</i>
<i>Entada africana</i> Guill et Perr.	écorces racines	<i>Mimosaceae</i>
<i>Lannea velutina</i> Rich.	Feuilles, écorces (racines et tronc)	<i>Anacardiaceae</i>
<i>Guiera senegalensis</i> J.F Gmel.	Feuilles	<i>Combretaceae</i>

5 Mécanisme d'action des antioxydants :

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition.

Cet intérêt a plusieurs origines ; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires.

6 Méthodes de tests antioxydants :

6-1 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-amidino propane (Salvi, 1998).

6-2 Test par CCM :

➤ Réduction du radical 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyle :

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 les systèmes appropriés.

Après séchage, gicler les plaques CCM avec une solution méthanolique à 2mg/ml de DPPH. Des activités antiradicalaires apparaissent sous de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet. Nous avons utilisé ce test au cours de notre méthodologie pour déterminer l'activité antioxydants (Cavin, 1999).

➤ Test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes :

Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique à 0.5mg/ml de β -carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de la plaque. Les zones 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).

L'INFLAMMATION :

1 Définition de l'inflammation :

L'inflammation est un mécanisme de défense qui contribue à la restauration du sujet, même si elle peut parfois entraîner des conséquences dommageables (http://www.diffu-sciences.com/pages/med_acces/encyclo/12_syst_immunitaire.html). Février 2004

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

2 Facteurs étiologiques :

➤ **Agents exogènes :**

Agents physiques : radiations, électricité, froid, chaleur, piqûre, coupure, contusion.

Agents chimiques : acide, base, substances minérales diverses.

Agents biologiques : microorganismes pathogènes (virus, bactérie, parasite, champignon) et d'autres agents comme le vin, le pollen et les toxines. (Dieng, 1993 ; Bayes, 1997).

➤ **Agents endogènes :**

Ce sont essentiellement les antigènes, les auto-antigènes, les complexes immuns circulants, également les cristaux formés dans les liquides biologiques (urates, cholestérol,) (Bayes, 1997).

3 Les phases de l'inflammation :

Classiquement, les mécanismes de l'inflammation peuvent être groupés selon la séquence et les manifestations cellulaires et tissulaires suivantes :

➤ **phase vasculaire et plasmatique :**

Elle est caractérisée par une vasodilatation artérielle entraînant un érythème, un dégagement de chaleur locale, une hyperesthésie.

Il se produit une altération des micro capillaires par relâchement des cytokines et des substances vasoactives (histamine, bradykinine, sérotonine, prostaglandine, dérivés du complément) entraînant l'exsudation des cellules et du plasma vers les tissus.

➤ **phase cellulaire :**

La migration extra vasculaire (diapédèse) des leucocytes et la libération de cytokines sont à l'origine de l'activation cellulaire et de la libération de médiateurs. Dès lors une succession d'événements au sein de la lésion inflammatoire entraîne :

- la phagocytose d'agents extérieurs
- la captation et la présentation d'antigènes
- la production de radicaux libres

Les cytokines en outre agissent au niveau systémique pour augmenter la défense de l'hôte sous forme de fièvre.

➤ **phase de régénération :**

Elle passe par :

- Une détersion ou élimination de l'agent causal et des débris cellulaires et tissulaires du foyer inflammatoire de façon interne (phagocytose, pinocytose) ; externe par les orifices naturels ou par formation d'abcès : artificielle (incision chirurgicale).
- Une cicatrisation, celle-ci dépend de l'importance de la perte de substances survenue à la phase aiguë.

Le tissu conjonctif est construit de nouveau par la synthèse de collagène, la multiplication cellulaire (fibroblastes) et la néogénèse vasculaire à partir des capillaires persistants ou localisés en périphérie du site.

La surproduction de tissu conjonctif lors de la cicatrisation aboutit à la formation de cicatrices hypertrophiques et de chéloïdes, également un défaut de détersion peut entraîner une persistance des phénomènes inflammatoires (chronicité) (Schorderet et coll.,1998 ; Haslett et coll., 2000 ; Cohen, 1986).

4 Les cellules et médiateurs de l'inflammation :

4-1 Les cellules :

- **Les polynucléaires neutrophiles :** ils libèrent des protéases, des protéines cationiques, les éicosanoïdes. Ils présentent des récepteurs membranaires responsables de leurs propriétés d'adhérence, de chimiotactisme, de migration, endocytose et phagocytose. Ces polynucléaires neutrophiles sont phagocytés par le macrophage après leur mort sur le site.
- **Les phagocytes mononucléés :** les mononucléés sont produites par la moelle osseuse. Leur rôle principal est l'adsorption et la lyse d'agents pathogènes. Ils assurent également la présentation des antigènes aux lymphocytes, la résorption de substances étrangères et

de débris. Ils sécrètent des cytokines, participent à l'agression tissulaire par la libération de métabolites de l'oxygène, de protéase.

Enfin ils participent à la fibrinogénèse et au remodelage cellulaire par l'apport de collagénase.

- **Les lymphocytes** : ils naissent dans la moelle osseuse et se retrouvent dans le sang et les tissus lymphoïdes.

Ils sont de deux types : les lymphocytes B qui par différenciation donnent naissance aux plasmocytes, producteurs d'immunoglobulines et les lymphocytes T responsables de l'immunité à médiation cellulaire.

- **Les polynucléaires éosinophiles** : Ils libèrent les dérivés de l'acide arachidonique.
- **Les mastocytes** : Ils contiennent de l'histamine.
- **Les cellules endothéliales** : Elles sécrètent les cytokines, leur multiplication et leur différenciation sont indispensables à l'angiogénèse, facteur clé de réparation tissulaire.
- **Les fibrinoblastes** : Ils libèrent la collagénase.
- **Les plaquettes** : Elles constituent le lieu de stockage de la sérotonine (Capron, 1998 ; Diouf, 1991).

4-2 Médiateurs de l'inflammation :

4-2-1 Médiateurs cellulaires :

- **Les amines vasoactives** : il s'agit de :
 - * La sérotonine, stockée dans les plaquettes sanguines et dans les cellules chromaffines de la muqueuse intestinale libérée, elle stimule les fibres lisses vasculaires et la disjonction des cellules endothéliales.
 - * L'histamine, dont la première source est les mastocytes, est libérée par d'autres cellules comme les phagocytes (polynucléaires neutrophiles et basophiles, macrophage), les cellules sanguines (plaquettes, hématies). Elle est retrouvée au niveau de l'épiderme de la muqueuse gastro-intestinale et du système nerveux. Dans toutes ces cellules, l'histamine se trouve stockée sous forme de complexes protéiques inactifs car liée à l'héparine. Elle est libérée lors de la dégranulation des cellules phagocytaires et a des propriétés chimiotactiques pour les phagocytes (Capron, 1998).
- **Les éicosanoïdes** : Ce sont des composés à vingt acides aminés dérivés de l'acide arachidonique. Les uns sont de structure linéaire, les leucotriènes et les autres de structure cyclique, les prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes.

En réponse à une perturbation physique ou chimique, il se produit une activation de la phospholipase A₂ qui hydrolyse les liaisons esters des phospholipides membranaires et libère des dérivés de l'acide arachidonique, ce dernier à son tour est métabolisé selon deux voies :

- La voie de la lipooxygénase qui le transforme en leucotriènes.
- La voie de la cyclooxygénase qui le transforme principalement en prostaglandines.

Les leucotriènes augmentent la perméabilité capillaire et exercent une chimioactivité sur les polynucléaires.

Les prostaglandines produisent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux leucocytaire, en outre, elles dépriment certains mécanismes immunitaires et potentialisent les effets algogènes de la bradykinine.

Les thromboxanes stimulent les mécanismes de l'agrégation plaquettaire (Diouf, 1991)

- **Les cytokines** : les monokines et lymphokines forment un groupe de protéines jouant un rôle essentiel dans les communications intercellulaires et notamment entre les acteurs du processus inflammatoire. Elles sont sécrétées par les lymphocytes, les macrophages, les fibroblastes, les cellules endothéliales, les plaquettes et d'autres types de cellules telles que les cellules épithéliales (Capron, 1998).

Les cytokines pro inflammatoires sont essentiellement l'interleukine (IL)-1 qui est produite par les phagocytes mononuclées sous l'influence de divers facteurs inducteurs. Son action majeure est de promouvoir la sécrétion de l'IL-2 ; l'IL-6 induit la sécrétion d'anticorps par les lymphocytes B, favorise la synthèse par les hépatocytes des protéines de l'inflammation aiguë ; l'IL-8 favorise la chimiotaxie des neutrophiles ; *tumor necrosis factor* TNF α .

- **Le PAF acether**, phosphoglycérade issu de la dégradation des phospholipides membranaires, est vasodilatateur et augmente la perméabilité capillaire.

4-2-2 médiateurs plasmatiques :

- **Les kinines** : polypeptides plasmatiques phlogogènes, les kinines dont la plus active est la bradykinine ont divers effets sur l'inflammation. La bradykinine entraîne entre autre une activation de la phospholipase A2, une irritation des fibres sensorielles au niveau lésionnel, la bradykinine favorise en plus une vasoconstruction à la base de la stase intracapillaire (Diouf, 1991).
- **Le système du complément**, intervient dans le phénomène inflammatoire comme dans l'immunité par l'activation des deux voies (classique et alterne) et entraîne la fixation sur la particule cible de C3 responsable de l'opsonisation et de C5, C6, C7 et C8 responsables de la lyse avec libération de fragments peptidiques, les anaphylatoxines provoquant une inflammation locale.

- **Les facteurs de la coagulation**, la fibrine qui sédimente dans le site de l'inflammation à la phase aiguë est le résultat de l'activation de la fibrinogénèse (Capron, 1998 ; Haslett et coll., 2000).

5 Anti-inflammatoires :

5-1 Les anti-inflammatoires conventionnels :

Les anti-inflammatoires sont nombreux et appartiennent à des familles de médicaments différents puisqu'on y trouve des analgésiques, des corticoïdes, des antihistaminiques (Yvan, 1997).

5-1-1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

Ils forment un groupe hétérogène de médicaments qui agissent sur les conséquences de la réaction inflammatoire quelle que soit son origine (Yvan, 1997).

5-1-1-1 Mode d'action :

Le mode d'action commun de tous les AINS est la diminution de la production de prostaglandines du fait de l'inhibition de la cyclo-oxygénase.

Les prostaglandines sont directement impliquées dans l'inflammation, la douleur et l'hyperthermie.

5-1-1-2 Classification (Marc et coll, 2001):

Les AINS sont regroupés en plusieurs familles chimiques qui possèdent certaines particularités. On distingue ainsi :

- anti-inflammatoires indoliques : indométacine (INDOCID[®])
- anti-inflammatoires arylcarboxyliques : diclofenac (VOLTARENE[®]), naproxène (APRANAX[®])
- anti-inflammatoires oxicams : piroxicam (FELDENE[®])
- anti-inflammatoires anthraniliques (fénamates) : acide niflumique (NIFLURIL[®])
- anti-inflammatoires pyrazolés : phénylbutazone (BUTAZOLIDINE[®])
- anti-inflammatoires salicylés : acide acétylsalicylique (ASPIRINE[®]).

L'acide acétylsalicylique (ASPIRINE[®]) ne possède des propriétés anti-inflammatoires qu'à fortes doses (3 à 6 g/j).

5-1-1-3 Contre-indication et surveillance :

Syndrome inflammatoire accompagnant un foyer infectieux non contrôlé,

Ulcère gastro-duodéal même ancien,

Hémopathie,

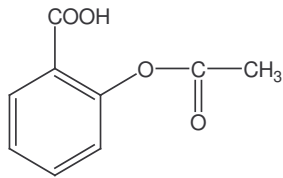
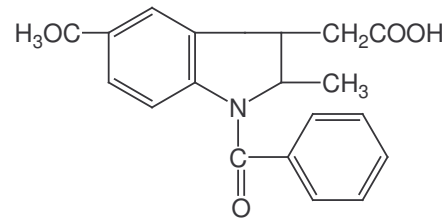
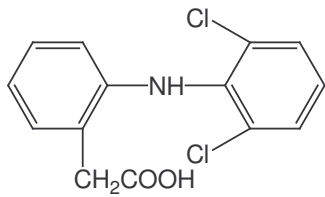
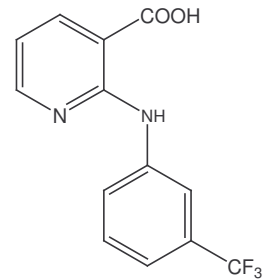
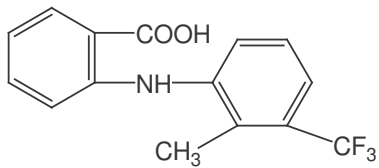
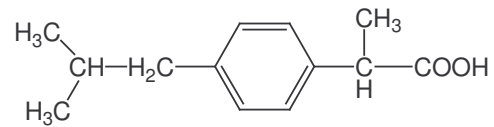
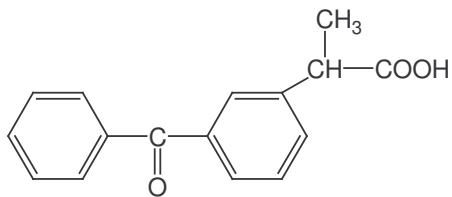
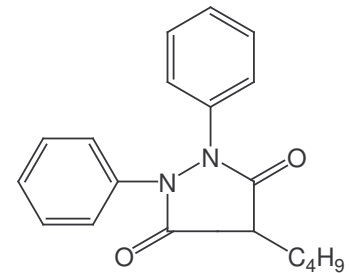
Insuffisance cardiaque ou rénale,

Grossesse et période de lactation,
Porphyrie,
Faire un régime sans sel pendant le traitement.

5-1-1-4 Effets secondaires :

Digestifs (gastralgies, nausées, vomissement)
Nerveux (céphalées, vertiges)
Allergiques (éruption, asthme)
Rénaux (hématuries isolées)
Sanguins (leucopénie et risque d'agranulocytose).

♦ Quelques structures des AINS :

**AAS (Aspirine[®])****Indométacine (Indocid[®])****Diclofenac (Voltarene[®])****Acide niflumique (Nifluril[®])****Acide mefenamique (Niflugel[®])****Ibuprofène (Tabalon[®])****Ketoprofène (Ketoderme[®])****Phenylbutazone (Butazolidine[®])**

5-1-2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens : les glucocorticoïdes

les glucocorticoïdes sont représentés par :

- la cortisone et l'hydrocortisone, produits naturels sécrétés par la corticosurénale ;
- les produits synthétiques.

5-1-2-1 Mode d'action :

Les corticoïdes agissent sur de nombreux métabolismes et fonctions de l'organisme.

Ils augmentent la production de la lipocortine, inhibant ainsi la phospholipase A₂ donc la libération de l'acide arachidonique. Par contre ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions superoxydes.

5-1-2-2 Contre-indications :

Hypersensibilité au médicament ;

Toute affection bactérienne et mycosique non contrôlée,

Affections rénales à manifestation ophtalmique,

Ulcère gastro-duodéal évolutif,

Cirrhose alcoolique avec ascite,

Vaccination par un vaccin vivant (Lechat, 1990 ; Coyen, 1990 ; Schorderet et coll., 1998).

5-1-2-3 Effets secondaires :

Troubles métaboliques (hydroélectriques, glucide, lipide, protide)

Troubles gastro-intestinales : dyspepsie, ulcère ;

Troubles rénaux, calcul ;

Troubles hématologiques : thrombose, hyper leucocytose, lymphopénie ;

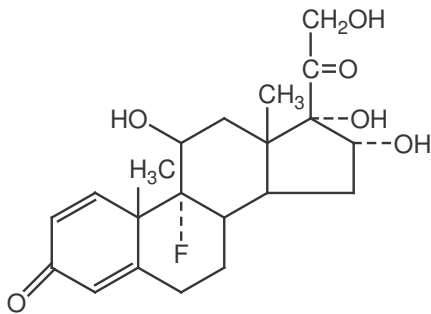
Déficit musculo-squelettique : faiblesse, atrophie musculaire, ostéoporose ;

Troubles dermatologiques ;

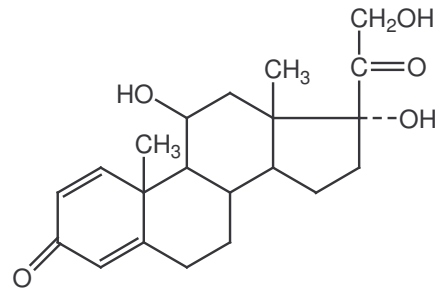
Troubles neuropsychiques : euphorie, troubles du sommeil, convulsion ;

Troubles ophtalmiques : augmentation de la pression rétinienne.

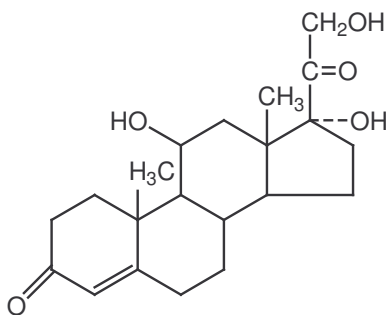
◆ Structures de quelques AIS de synthèse et naturels :



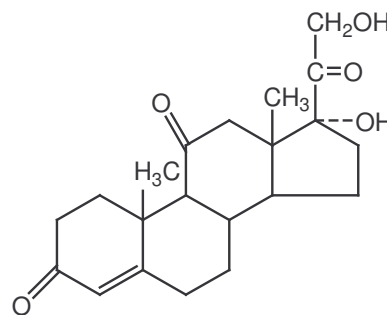
Dexamethasone (DECADRON®)



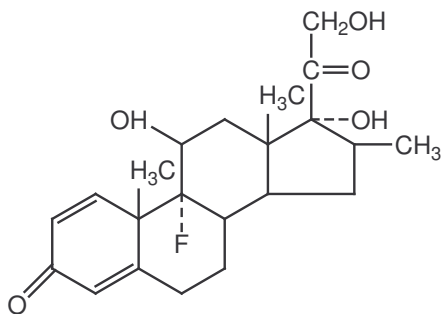
Prednisone (CORTANCYL®)



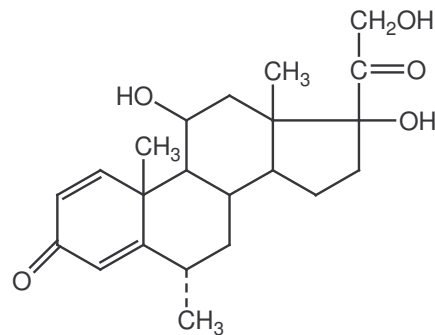
HYDROCORTISONE



Cortisone



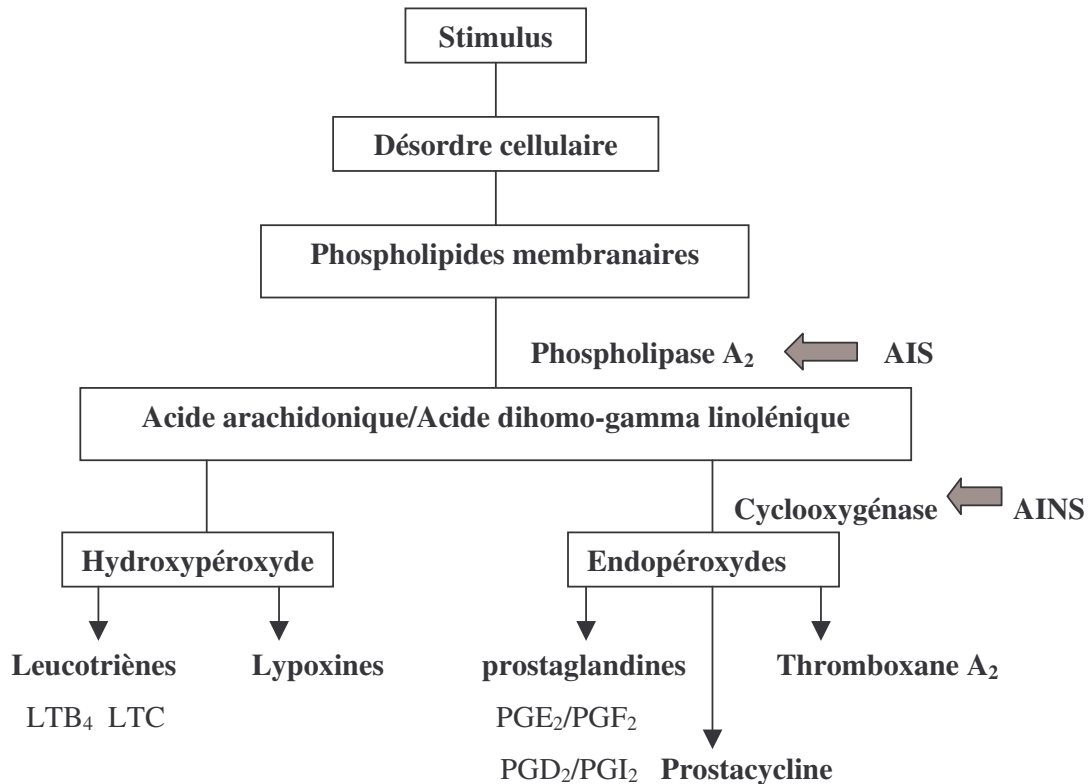
Bethamethasone (CELESTENE®)



Methylprednisolone (MEDROL®)

5-2 Les anti-inflammatoires d'origine végétale :**Quelques plantes anti-inflammatoires** (Timbo, 2004) :**Tableau n°2** : Quelques plantes à activité anti-inflammatoire

Nom scientifique	Famille	Parties utilisées
<i>Annona senegalensis</i> Pers.	<i>Annonaceae</i>	Racines et feuilles
<i>Baisea multiflora</i> ADC.	<i>Apocynaceae</i>	Rameaux feuillés
<i>Biophytum petersiannum</i> Klotz	<i>Oxalidaceae</i>	Plante entière
<i>Cola nitida</i> (Vent), Shlott	<i>Sterculiaceae</i>	Coques
<i>Combretum nigrans</i> Lepr.	<i>Combretaceae</i>	Feuilles
<i>Datura innoxia</i> Mill.	<i>Solanaceae</i>	Feuilles
<i>Guiera senegalensis</i> J.F Gme	<i>Combretaceae</i>	écorces de racines
<i>Securidaca longipedunculata</i> Fres.	<i>Polygalaceae</i>	écorces de racines
<i>Tamarindus indica</i> L.	<i>Caesalpinaceae</i>	Rameaux feuillés
<i>Balanites aegyptiaca</i> L	<i>Balanitaceae</i>	Feuilles



LT :Leucotriène

PG : Prostaglandine

Figure n°2 : Cascade arachidonique et site d'action des anti-inflammatoires (Timbo, 2003).

6 Méthodes de tests anti-inflammatoires :

6-1 Généralités :

Les méthodes d'étude des anti-inflammatoires sont très nombreuses. Après avoir créé l'inflammation sur les animaux de laboratoire, les effets sur les différentes phases de l'inflammation sont recherchés.

6-2 Œdème de la patte de rat :

L'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de rat provoque un œdème dont on peut ralentir le développement par un médicament anti-inflammatoire préventif (Winter et al., 1962).

6-3 Perméabilité capillaire chez le lapin :

L'essence de térébenthine ou de l'huile de croton est appliquée sur la peau épilée du lapin albinos. Une exsudation plasmatique est mise en évidence par l'injection intraveineuse de bleu trypan ou de bleu Evans qui se lie aux protéines plasmatiques. L'étendue de la tâche bleu cutanée est proportionnelle à la perméabilité capillaire. L'étendue de la diffusion du bleu dans la substance fondamentale du derme est réduite en présence d'anti-inflammatoires (Coyen, 1981).

6-4 Erythème aux rayons ultraviolets chez le cobaye :

Il s'agit d'apprécier l'intensité de la coloration rouge de la peau épilée du dos du cobaye soumis aux rayons ultraviolets, en absence puis en présence d'anti-inflammatoires. Ce test peut être effectué sur la souris (Cohen, 1981).

6-5 Arthrite à l'adjuvant de Freud :

Il s'agit de réduire par des substances anti-inflammatoires l'inflammation primaire et l'inflammation secondaire provoquées par injection intra-articulaire dans la patte postérieure du rat de l'adjuvant de Freud (suspension de bacilles tuberculeux tués) déterminant une réaction œdémateuse qui se développe immédiatement (inflammation primaire). La réaction immunitaire secondaire n'apparaît pas chez tous les rats traités, ce qui rend délicate la mise en œuvre de cet essai (Cohen, 1981).

6-6 L'inflammation locale de l'oreille :

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

NOTION DE TOXICITE

1 Toxicité par administration unique : Toxicité aiguë

Elle se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées.

C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et fournit pour autant que cela est possible, l'indication de la DL_{50} avec ses limites de confiance (95%). L'étude sur l'animal de laboratoire doit être effectuée sur un nombre égal d'animaux mâles et femelles. La durée de l'observation des animaux est précisée par l'expérimentateur. En général elle n'est pas inférieure à une semaine (Ruckebusch, 1981).

L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose qui tue 50% des animaux d'expérience (DL_{50}) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin (TRAORE, 1999).

2 Toxicité par administration réitérée : toxicité sub-aiguë et chronique :

Ces épreuves ont pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives aux administrations répétées de la substance active examinée et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Les expérimentations se font sur deux espèces de mammifères dont une non-rongeur. Une des deux épreuves durera 2 à 4 semaines, l'autre 3 à 6 mois. Le choix de la ou des voies d'administration doit tenir compte de la voie pour l'emploi thérapeutique et des possibilités de résorption. Le mode et le rythme des administrations ne sont pas codifiés strictement mais doivent être clairement indiqués ainsi que la durée des essais. Il est utile de choisir la dose la plus élevée de façon à faire apparaître des effets nocifs, les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal. L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles particulièrement celles qui se rapportent aux organes extérieurs ainsi que la base des comptes rendus nécropsiques, accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent (Ruckebusch, 1981).

3 Détermination de la dose létale 50 : DL₅₀

3-1 Définition : La DL₅₀ est la dose d'une substance chimique, qui administrée à des animaux de laboratoire provoque la mort de la moitié d'entre eux (Fané, 2003).

3-2 Différentes méthodes de détermination :

Méthode de Dragstedt et Lang

Méthode de Karber et Behrens

Méthode de Miller et Tainter

Méthode de Wilcoxon

3-2-1 Méthode de Dragstedt et Lang :

Deux postulats :

- . Tout animal ayant survécu à une dose donnée aurait survécu à toute dose inférieure à celle-ci si elle lui avait été injectée.
- . Tout animal ayant succombé à une dose déterminée aurait succombé à n'importe laquelle des doses supérieures si elle lui avait été administrée.

On peut ainsi pour chaque dose de la substance, totaliser tous les morts déjà observés aux doses inférieures et tous les vivants encore observés aux doses supérieures. Elle permet de calculer le pourcentage de mortalité à chaque dose sur un plus grand nombre d'animaux que celui qui a réellement reçu cette dose. On fait ensuite la courbe représentant les pourcentages de mortalité en fonction de la dose. Si au voisinage de la DL₅₀ la courbe est une droite, on pourra déterminer ce point d'après l'équation de la courbe en utilisant la formule suivante :

$$DL_{50} = \frac{50 (X_2 - X_1) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

X₂ : dose supérieure encadrant la DL₅₀

X₁ : dose inférieure encadrant la DL₅₀

Y₁ : pourcentage de mortalité correspondant à X₁

Y₂ : pourcentage de mortalité correspondant à X₂

3-2-2 Méthode de Karber et Behrens :

Principe : On administre des doses croissantes de substance à des lots de souris de masses uniformes.

La dose administrée est exprimée en mg/ kg de masse corporelle.

La différence entre les doses voisines doit être constante.

Pour chaque lot, on note le pourcentage de mortalité dans l'heure qui suit ou au bout du temps imparti.

La DL₅₀ est obtenue par la formule :

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{S(a,b)}{n} \quad (\text{Karber et Behrens, 1935})$$

DL₁₀₀ : la plus petite dose tuant tous les animaux

a = la moyenne de la somme des morts à deux doses consécutives

b = la différence entre deux doses successives

n = nombre d'animaux utilisés par lot

. Manipulation :

- peser chaque animal
- administrer un volume correspondant de solution
- après chaque administration, marquer l'animal suivant le code indiqué
- suivre le comportement des animaux et noter les symptômes observés
- relever le nombre de morts au bout du temps imparti.

3-2-3 Méthode de Miler et Tainter (Valette, 1972) :

On dispose d'un papier logarithme-probabilité sur lequel on porte en abscisse (échelle logarithme) les doses et en ordonnée (échelle probits) les pourcentages de mortalité.

En général il se trouve dans chaque série d'essai une dose assez faible pour laisser en survie tous les animaux et une dose assez élevée pour tuer tous les animaux dans les lots assignés respectivement à chacune des doses. Pour ces deux résultats, la valeur des probits est infiniment grande. On convient alors suivant la suggestion de Bartlett, de remplacer 0 par 0,25 au numérateur de la fraction 0/n représentant le résultat obtenu avec la <<dose maximum supportée>> (aucun animal mort sur les n animaux employés) et de même de remplacer n' par

$n'-0,25$ au numérateur de la fraction n'/n qui représente le résultat obtenu avec la dose 100% mortelle.

Les deux points définis par ces coordonnées sont inscrits sur le graphique en regard des doses correspondantes. On trace alors à vue une « droite de régression provisoire » s'ajustant au mieux avec les points expérimentaux et les deux résultats de la correction effectuée ci-dessus pour les pourcentages 0 et 100%. Ce faisant, on accordera une valeur plus grande aux points situés au voisinage du pourcentage 50 (probits = 5) qu'à ceux qui ont des coordonnées supérieures à 84 (probits = 6) ou inférieures à 16 (probits = 4). Le point correspondant au pourcentage 100 doit être situé au-dessus.

La dose DL_{50} est alors lue directement sur l'abscisse du point d'ordonnée 50 pour l'estimation de l'écart type de la DL_{50} , on lit sur le graphique les doses correspondant respectivement à 16% et 84% de mortalité (probits 4 et 6) ; en soustrayant le premier du second, on obtient la valeur $2S$ qui est l'accroissement de dose nécessaire pour accroître de 2 probits la réponse. L'écart type approché est donné par :

$$E = \frac{2S}{\sqrt{2N'}}$$

N' étant le nombre total d'animaux dans les groupes qui ont donné des pourcentages de mortalité compris entre 6,7 et 93,3% (soit en probit : 3,5 et 6,5).

3-2-4 Méthode de Litchfield et Wilcoxon (Dupont, 1970) :

Principe : La méthode de Litchfield et Wilcoxon permet, grâce à l'utilisation d'un test de signification statistique, appelé X^2 (ki deux) de Pearson, de tracer la droite de régression dose-mortalité d'une façon simple, les deux valeurs : DL_{50} et intervalle de confiance sur la DL_{50} .

Méthode :

Dans un tableau de 6 colonnes, noter les valeurs suivantes :

Première colonne(di) : données expérimentales

Soit K le nombre de doses choisies et $n = K - 2$ le nombre de degrés de liberté.

Deuxième colonne : r_i/n_i	$\frac{\text{Nombre d'animaux morts}}{\text{Nombre d'animaux testés}}$
------------------------------	--

Troisième colonne : pourcentage de réponse (100 pi) correspondant à chaque dose. Sur papier logarithmique-probabilité, noter chacun des points (100 pi) pour chaque dose (di), en ne tenant pas compte des effets 0 et 100%. Tracer une droite passant au mieux à travers tous les points.

Quatrième colonne : les pourcentages théoriques (100 pî) sont lus sur la droite tracée, pour chaque dose testée.

Cinquième colonne : noter la contribution au X^2 qui peut être calculée par la formule :

$$X^2 = \frac{(pi - p\hat{i})^2}{Pi (1 - p\hat{i})}$$

Le nomogramme I de Litchfield et Wilcoxon donne très simplement la contribution au X^2 : la droite passant par les valeurs correspondantes de pi et (pi - pî) coupe la ligne située à droite en un point qui est la contribution au X^2 pour un pî donné.

Faire la somme des différentes valeurs inscrites dans cette sixième colonne.

Pour obtenir une valeur approchée du X^2 , on multiplie la somme précédente par $\frac{N}{K}$ soit X^2_0 le résultat obtenu. Relever dans la table de valeur de $X^2_{0,05}$ pour le nombre n de degrés de liberté. Comparer $X^2_{0,05}$ et X^2_0 . Deux cas sont disponibles :

■ $X^2_0 < X^2_{0,05}$

On peut admettre que la droite tracée est bien ajustée aux données expérimentales.

■ $X^2_0 > X^2_{0,05}$

Il faut essayer de diminuer X^2_0 en traçant une autre droite plus proche des conditions de l'expérience.

Dans le cas favorable où $X^2_0 \leq X^2_{0,05}$ relever sur la droite, la valeur de la DL_{50} .



**TRAVAUX
PERSONNELS**

1-Matériels :

1-1 Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué par les feuilles de *S. guineense*, collectées le 24 janvier 2004 à Blendio. Un spécimen est déposé à l'herbier du DMT. Les feuilles fraîches ont été préalablement broyées à l'aide d'un mortier traditionnel avant séchage.

Le séchage a été effectué à l'ombre à la température ambiante au DMT. Après séchage, les feuilles ont été pilées au mortier traditionnel pour obtenir une poudre grossière, puis réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur à hélice type Retsch SM 2000. Nous avons obtenu une poudre fine de couleur gris verdâtre claire. C'est cette poudre que nous avons utilisé pour nos investigations phytochimiques et pharmacologiques.

1-2 Matériel technique :

Balance analytique de précision type Sartorius

Mortier et pilon

Moulin Retschde type S.M 2000/1430upm

Ballons

Erlenmeyer

Fioles

Becher

Eprouvettes graduées

Entonnoirs en verre

Papiers filtres wattman

Baguette d'agitation

Agitateur magnétique

Rotavapor vacuum Rotary evaporator type 349/2

Lyophilisateur Heto-Drywinner Model DW 1,0-60^E

Plaque de silicagel G₆₀ F₂₅₄

Cuves avec couvercle

Crayon de papier

Flacons

Lame

Pipettes et micro pipettes

Pinces

Pulvérisateurs

Lampe UV (254 ; 366 nm)

Séchoir

Règle graduée

Ampoule à décanter

Les révélateurs (réactifs de Godin, $AlCl_3$, Dragendorff)

Solvants

Eau distillée

Acide sulfurique

Méthanol

Ethanol 80°

Buthanol

Acide acétique

Chloroforme

1-3 Matériel animal :

. **Souris** : Nous avons travaillé sur des souris mâles et femelles de masse comprise entre 18 et 27 g.

C'est une souche non consanguine qui a été sélectionnée à partir d'une lignée de souris présentant des caractéristiques de vigueur et de reproductivité appelée CF1 (Carworth Farms Souche1) et qui a pris le nom de OF1 (Oncins France Souche 1).

Elles ont été fournies par le Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie.

2- Etude phytochimique :

2-1 Réactions de caractérisation en tubes :

Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme.

2-1-1 Les Alcaloïdes : les Alcaloïdes forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques et présentant une forte activité pharmacologique.

Solution à analyser :

Nous avons introduit de la poudre végétale (10 g) dans un erlenmeyer de 250 ml à laquelle nous avons ajouté 50 ml de H_2SO_4 dilué au 1/10 (50 ml).

Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire.

Nous avons filtré sur papier lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

Caractérisation :

Nous avons effectué une caractérisation par précipitation en nous servant d'un témoin qu'est la strychnine (alcaloïde extrêmement toxique extraite du *Strychnos nux vomica*). Elle peut être administrée à petites doses comme stimulant du nerf et du muscle.

Prendre 4 tubes à essai et introduire 1 ml de filtrat dans chacun des deux premiers et 1 ml de strychnine dans chacun des deux autres.

Ajouter dans les tubes 1 et 3 ; 5 gouttes de réactif de Mayer, ensuite dans les tubes 2 et 4 ; 5 gouttes de réactif de Dragendorff.

Les résultats ont été classés comme suit :

Précipité abondant : + + +

Précipité moyen : + +

Précipité louche : +

2-1-2 Les substances polyphénoliques :

Les substances polyphénoliques constituent un groupe très variable difficile à définir. La présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié un groupement hydroxyle est fondamentale pour la structure de ce groupe.

Solution à analyser : Nous avons introduit de la poudre sèche (5 g) dans de l'eau distillée bouillante (100 ml) contenue dans un erlenmeyer de 250 ml.

Nous avons arrêté l'ébullition et fermé avec un verre de montre; après infusion pendant 15 mn (infusé à 5%); nous avons filtré sur papier et rincé avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

Caractérisations :

▪ **Tanins :** Ce sont des esters du glucose ou de l'acide gallique. Les propriétés biologiques de ces tanins sont en relation avec leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines.

Nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5% ; puis nous avons ajouté 1 ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1%.

En présence de tanins il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

Pour caractériser la présence de tanins catéchiques, nous avons ajouté 1 ml d'acide chlorhydrique concentré à 5 ml d'infusé à 5%, puis porté à l'ébullition pendant 15 mn ensuite filtré sur papier.

En présence de tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

La différenciation des tanins (catéchiques et galliques) est obtenue par la 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% plus 5 ml HCl concentré) et chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn.

L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter 1 ml d'une solution de FeCl₃ à 1%. Le développement d'une teinte bleu noire indique la présence de tanins non précipités par le réactif de Stiasny : ce sont les tanins galliques.

▪ **flavonoïdes** : Ce sont des pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et parfois des feuilles.

A 5 ml d'infusé présentant une coloration plus ou moins foncée ; ajouter 5 ml d'acide sulfurique puis 5 ml de NH₄OH.

Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyane.

La réaction à la cyanidine : Introduire dans un tube à essai 5 ml d'infusé, ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) ; 1 ml d'alcool iso amylique puis quelques copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de crépitation pendant quelques minutes.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose- violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine).

Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

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

Effectuer la réaction à la cyanidine sans ajouter de copeaux de magnésium et chauffer pendant 15 mn au bain-marie.

En présence de leucoanthocyane, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

2-1-3 Dérivés anthracéniques : Les dérivés anthracéniques appartiennent au groupe des quinones. Ils se caractérisent par leur pouvoir oxydant élevé.

Solution à analyser :

Extraits chloroformiques : A 1 g de drogue en poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffer prudemment au bain-marie pendant 3 mn, filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire.

Hydrolysât : A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, ajouter 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Maintenir le tube à essai dans le bain-

marie bouillant pendant 15 mn. Refroidir sous un courant d'eau et filtrer. Compléter à 10 ml avec l'eau distillée.

Caractérisation :

Dérivés anthracéniques libres :

Introduire dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué puis agiter ; la coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

Dérivés anthracéniques combinés :

➤ **O-Hétérosides :**

Prélever 5 ml d'hydrolysât et agiter avec 5 ml de chloroforme, soutirer la phase organique et l'introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué. Agiter, la présence d'anthraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense. Si la réaction est négative ou faiblement positive, rechercher les O-hétérosides à génine réduite.

Prélever 5 ml d'hydrolysât et ajouter 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10 %, chauffer pendant 5 mn au bain-marie. Refroidir, agiter avec 5 ml de chloroforme. Soutirer la phase chloroformique et l'introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou anthrones, la coloration rouge est plus intense que précédemment.

➤ **C-hétérosides :**

Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hérosides par 10 ml d'eau distillée et ajouter 1 ml de FeCl_3 à 10%. Maintenir le tube à essai dans un bain-marie bouillant pendant 30 mn, refroidir

et agiter avec 5 ml de chloroforme, soutirer la phase chloroformique dans un tube à essai. Ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

2-1-4 Stérols et triterpenes :

Solution à analyser : Introduire dans un tube à essai 1 g de poudre et 20 ml d'éther. Boucher, agiter et laisser au réfrigérateur pendant 24 heures ; puis filtrer sur papier filtre , ensuite compléter à 20 ml avec de l'éther.

Caractérisation :

Réaction de Liebermann-Buchard :

Evaporer jusqu'à sec dans une capsule 10 ml d'extrait chloroformique, dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique plus 1 ml de CHCl_3 . Recueillir dans deux tubes à essai, l'un servira de référence. A l'aide d'une pipette, déposer 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré au fond du tube à essai, ne pas agiter. 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 de triterpènes.

Caractérisation chimique des caroténoïdes :

Evaporer 5 ml d'extrait chloroformique dans une capsule, ajouter 2 à 3 gouttes de solution saturée de $SbCl_3$ dans le chloroforme ou dans CCl_4 . Il se développe une coloration bleue devenant rouge par la suite en cas de réaction positive.

2-1-5 Hétérosides cardiotoniques :

Solution à analyser :

Introduire 1 g de poudre dans un tube à essai, ajouter 10 ml d'éthanol à 60° et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de Pb à 10%. Porter au bain-marie bouillant pendant 10 mn, filtrer sur coton.

Caractérisation :

Agiter le filtrat avec 10 ml de $CHCl_3$ (en évitant la formation d'émulsion). Laisser décanter, soutirer la phase chloroformique et la partager entre 3 tubes à essai. Evaporer au bain-marie bouillant à sec, reprendre les résidus par 0.4 ml d'isopropanol. Ajouter dans les 3 tubes :

- tube n°1 : 1 ml de réaction de Baljet
- tube n°2 : 1 ml de réactif de Kedde
- tube n°3 : 1 ml de réactif de Raymond-Marthoud

Puis introduire dans chacun des 3 tubes 4 gouttes de KOH à 5% dans l'alcool. En cas de réaction positive il se développe les colorations suivantes :

- tube n°1 : orangée
- tube n°2 : rouge violacée
- tube n°3 : violet fugace

2-1-6 Saponosides :

Solution à analyser : Introduire 1 g de poudre dans un erlenmeyer de 250 ml. Ajouter 100 ml d'eau distillée. Maintenir à ébullition pendant 15 mn. Filtrer et après refroidissement ajuster à 100 ml.

Caractérisation :

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire successivement 1,2,3,...,10 ml de décocté. Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée.

Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde en maintenant le tube fermé à l'aide du pouce. Laisser reposer 15 mn et mesurer la hauteur de la mousse. Si celle ci est inférieure à 1 cm dans tous les tubes l'indice

est moins de 100. La dilution dans le tube où la hauteur de la mousse est égale à 1 cm représente l'indice recherché.

Si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm dans les tubes, dans ce cas il est nécessaire de préparer une nouvelle série de dilution de la décoction et recommencer le processus de détermination.

$$\text{Indice de mousse} = \frac{100}{\text{n}^\circ \text{ du tube}}$$

2-1-7 Recherche de stupéfiants : les tétrahydrocannabinols

Peser 0.5 g de poudre et l'introduire dans un tube à essai. Ajouter 5 ml d'éther de pétrole et agiter pendant 15 mn.

Décanter la phase éthéro-pétrolique dans une capsule.

Evaporer à sec au bain-marie.

Ajouter 3 à 4 gouttes de KOH à 5 % dans l'alcool. La coloration violette indique une réaction de **Beam** positive.

2-1-8 Autres caractérisations :

➤ **Composés réducteurs :**

Introduire 5 ml de décocté aqueux dans une capsule puis évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu ajouter 1 ml de réactif de Fehling (0.5 ml de réactif A + 0.5 ml de réactif B, mélange extemporané).

L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

➤ **Oses et holosides :**

Introduire 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporée à sec au bain-marie. Ajouter au résidu 2 à 3 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 5 mn ajouter 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol. Le développement d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

➤ **Mucilages :**

Introduire 1 ml de décocté aqueux à 10 % dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'alcool absolu, attendre 10 mn.

L'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilage.

➤ **Coumarines :**

Evaporer 5 ml d'extrait éthérique (macération pendant 24 heures) dans une capsule à l'air libre. Ajouter au résidu 2 ml d'eau chaude. Partager la solution entre 2 tubes et ajouter au

contenu de l'un des tubes 0,5 ml de NH_4OH à 25%, mélanger et observer la fluorescence sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté du NH_4OH indique la présence de coumarines, l'autre tube sert de témoin.

2-2 Dosage de l'eau :

Les plantes fraîches renferment 60 à 80% d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10% (Paris et Moyses, 1965).

Nous avons utilisé deux méthodes de dosage : la méthode gravimétrique ou pondérale et la méthode par entraînement azéotropique.

2-2-1 Méthode gravimétrique ou pondérale :

C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve. Celle-ci concerne l'échantillon broyé et se déroule dans des conditions bien définies.

Matériel :

- une balance analytique de précision, type Sartorius.
- une étuve MEMMENT à la température de 103°C plus ou moins 2
- une spatule et une pince métallique
- cinq capsules en verre
- un dessiccateur.

Mode opératoire :

Opérer en utilisant cinq verres de montre préalablement chauffés et les peser après refroidissement. La masse du verre de montre vide représente la tare. Prendre 2 à 5 g de poudre qui sont placés dans les différents verres.

Peser les verres de montre pour obtenir la masse totale avant l'étuvage. Placer les cinq verres de montre dans l'étuve à 103°C pendant 24 heures. Peser ensuite pour obtenir la masse après étuvage. Calculer donc à l'aide de ces données, le pourcentage d'eau en sachant que :

$$\text{Masse drogue essai} = \text{Masse totale avant étuvage} - \text{tare}$$

$$\text{Masse eau} = \text{Masse totale avant étuvage} - \text{Masse totale après étuvage}$$

$$\text{Pourcentage d'eau} = \frac{\text{Masse eau} \times 100}{\text{Masse drogue essai}}$$

Nous avons considéré la moyenne des cinq prises d'essai pour déterminer la teneur en eau de notre échantillon par la méthode pondérale.

2-2-2 Méthode par entraînement azéotropique :

Dans ce cas, l'eau est entraînée, par distillation dans un solvant non miscible mais qui forme avec elle un mélange azéotrope à une température d'ébullition constante. Après condensation par réfrigération des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et est mesurée en volume.

Matériel et Réactif :

L'appareillage nécessite un ballon de 250 ml, un réfrigérateur à reflux et un tube gradué relié au réfrigérant. Nous avons utilisé 100 ml de xylène comme solvant et 1 ml d'eau distillée (introduite dans le xylène).

Mode opératoire :

Faire bouillir cet ensemble

2-3 Dosage des cendres :**2-3-1 Cendres totales :****Matériels :**

Balance analytique de précision type Sartorius

Etuve MEMENT

Pince et spatule métallique

Creuset en quartz

Four électrique réglé à 600°C

Mode opératoire :

C'est une méthode pour mesurer la quantité de substances résiduelles non volatilisées lorsque l'échantillon de drogue est complètement calciné.

Introduire une prise d'essai de 1 à 5 g de poudre dans un creuset de quartz préalablement taré.

Calciner à 600°C au four à moufle, laisser refroidir et peser.

Calcul

Masse drogue essai = masse avant calcination - tare

Masse cendres = masse après calcination - tare

$$\text{Pourcentage cendres totales} = \frac{\text{Masse cendre} \times 100}{\text{Masse drogue essai}}$$

2-3-2 Cendres insolubles dans HCl à 10% :

Ce sont les résidus obtenus après traitement des cendres totales par HCl, c'est à dire les sables qui peuvent souiller les drogues mal lavées ou mal triées.

Ajouter dans un creuset en silice, 20 ml d'HCl à 10% aux cendres totales obtenues. Les mélanger dans un erlenmeyer, puis chauffer au bain-marie pendant 10 mn. Filtrer sur un papier filtre sans cendres. Laver le résidu insoluble à l'eau très chaude. Incinérer le filtre séché et le résidu insoluble dans un four à 600°C jusqu'à poids constant. Laisser refroidir et peser. Lorsque la teneur est très élevée, la drogue est mal entretenue. Les calculs se font comme pour les cendres totales.

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

2-3-3 Cendres sulfuriques :

C'est une méthode d'évaluation des substances inorganiques de la drogue végétale. Les cendres sulfuriques sont obtenues après une attaque de la drogue par l'H₂SO₄. La teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale préalablement traitée avec H₂SO₄ dilué à 50%. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

Nous avons introduit la prise d'essai (P.E) dans un creuset en platine préalablement taré. La prise d'essai est mouillée avec une quantité suffisante de H₂SO₄ dilué au demi, triturée avec une baguette.

Nous avons placé le creuset l'étuve jusqu'à évaporation à sec puis au four jusqu'à obtention des cendres. Il est refroidi dans un dessiccateur, sa masse est déterminée (P').

La masse de cendre sulfurique de la prise d'essai est : $S = P' - T$

$$\text{La teneur en cendre sulfurique} = \frac{S \times 100}{P}$$

S = masse de cendre sulfurique de la prise d'essai,

P = masse en g de la prise d'essai,

T = tare du creuset,

P' = masse en gramme du creuset après calcination.

2-4 Substances extractibles :**2-4-1 Substances extractibles par l'éthanol à 80% :**

Introduire dans un erlenmeyer 1 g de poudre puis 20 ml d'éthanol à 80% ; laisser macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire du DMT après avoir fermé à l'aide d'un verre de montre. Filtrer avec du papier filtre. Peser le bêcher vide (n).

Mettre le filtrat dans ce bêcher, évaporer à sec et peser le bêcher avec le résidu (n').

$$\text{Substance extractible par l'éthanol à 80\%} = \frac{(n' - n) \times 100}{\text{P.E (Prise d'Essai)}}$$

2-4-2 Substances extractibles par l'eau :

Introduire dans un ballon 1 g de poudre et 20 ml d'eau distillée. Faire une décoction pendant 15 mn.

Laisser refroidir pendant 20 mn. Filtrer sur du papier filtre.

Peser une capsule vide (n)

Mettre le filtrat dans cette capsule. Evaporer à sec.

Peser la capsule avec le résidu (n')

$$\text{Substances extractives par l'eau} = \frac{(n' - n) \times 100}{\text{P.E (Prise d'Essai)}}$$

2-5 Extractions :

Principe : La détermination des extraits est une méthode destinée à mesurer la quantité des composés ou substances pouvant être extraites par un solvant dans des conditions spécifiques.

Matériels : Ballon de 3000 ml, erlenmeyer, entonnoirs, éprouvette, baguettes magnétiques, agitateurs, thermomètre, ballons, papier filtre, tissu percale.

Appareillage : balance de précision type Sartorius, bain-marie, Rotavapor de type **Büchi R-200**, congélateur.

Types : Nous avons utilisé des méthodes d'extraction à froid et des méthodes d'extraction à chaud.

2-5-1 Méthodes d'extraction à chaud :**2-5-1-1 Décoction à 10% :**

Introduire 200 g de poudre de feuilles séchées dans un ballon. Ajouter 2000 ml d'eau distillée. Faire bouillir dans un bain-marie pendant 3 heures. Filtrer après refroidissement. Le filtrat a été concentré au Rotavapor à une température comprise entre 40-50°C pour être lyophiliser.

Les extraits lyophilisés ont été récupérés dans des flacons et conservés.

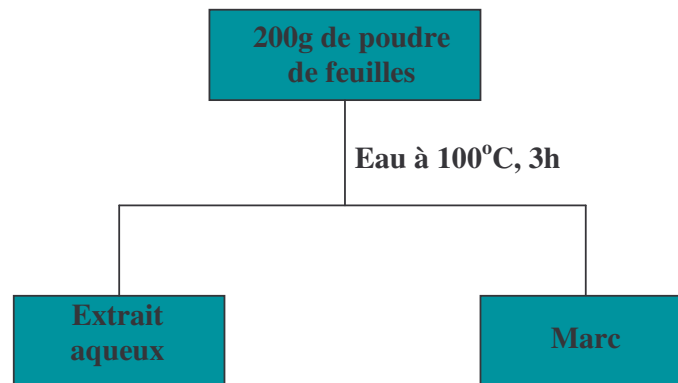


Figure n°3: Schéma de décoction de poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.

2-5-1-2 Digestion à 50°C :

A 100g de poudre nous avons ajouté 1000 ml d'eau distillée dans un ballon de 3000 ml. L'ensemble est porté au bain-marie à 50°C pendant 3 heures. Après refroidissement et filtration le filtrat est concentré au rotavapor puis lyophilisé.

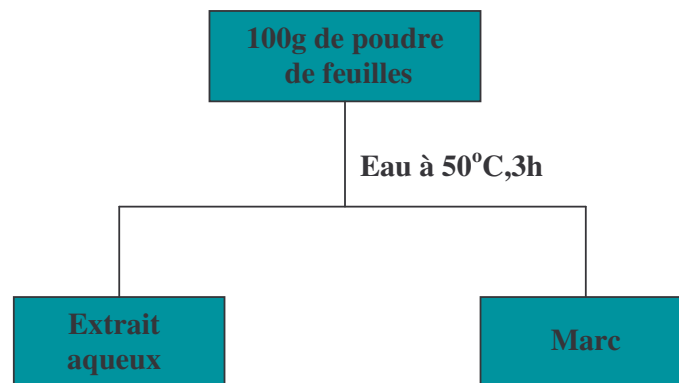


Figure n°4: Schéma de digestion de poudre de feuilles de *Syzygium guineense*

2-5-2 Méthodes d'extraction à froid :

2-5-2-1 Macération par l'eau :

A 50 g de poudre nous avons ajouté 500 ml d'eau distillée. Nous avons laissé sous agitation magnétique, pendant 72 heures. Chaque jour nous avons filtré et le marc a été repris de

nouveau avec 500 ml d'eau distillée et cela pour (3x 500 ml). Les filtrats ont été concentrés au Rotavapor et lyophilisés.

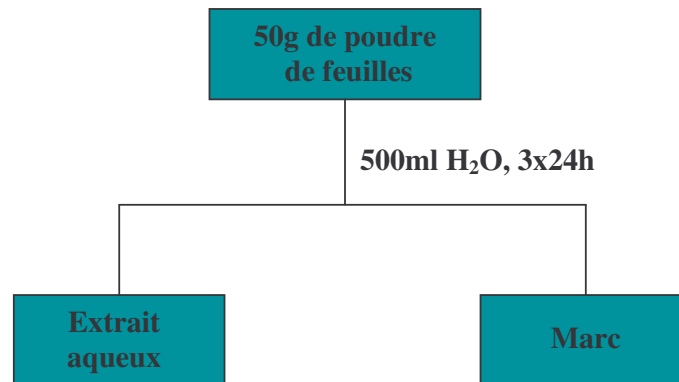


Figure n°5 : Schéma de macération par l'eau de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.

2-5-2-2 Macération par l'éthanol :

Le procédé est le même que pour la macération avec de l'eau. Le solvant utilisé a été l'éthanol à 80%.

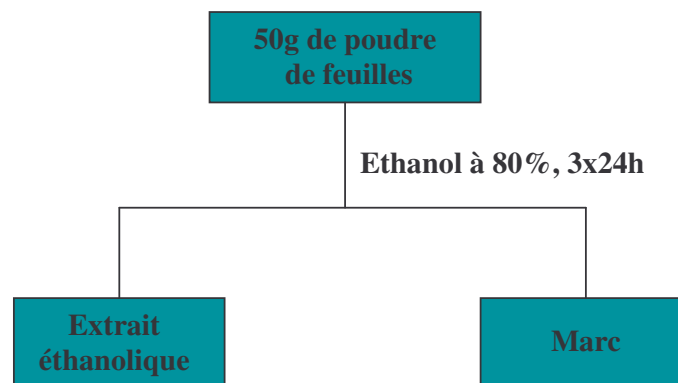


Figure n°6: Schéma de macération par l'éthanol de poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.

2-5-2-3 Macération par le chloroforme :

A 50 g de poudre de feuilles de *Syzygium guineense*, nous avons ajouté 500 ml de chloroforme dans un erlenmeyer. Le mélange a été mis sous agitation magnétique pendant 72heures et nous avons repris l'opération avec la même quantité de chloroforme. Après

filtration sur coton, le filtrat a été concentré à 45°C au Rotavapor et nous avons laissé le concentré à la température du laboratoire pendant 3 jours.

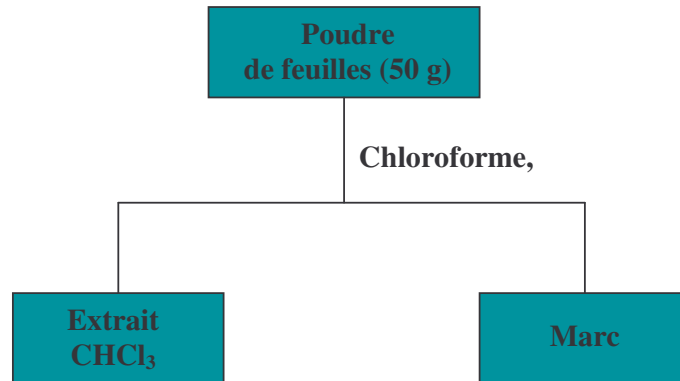


Figure n° 7: Schéma de macération par le chloroforme de poudre de feuilles de *Syzygium guineense*

2-5-3 Extraction par les solvants organiques à polarité croissante: Elle a été réalisée au Soxhlet.

Principe : l'extraction au soxhlet consiste en un épuisement continu de la drogue par un solvant donné à l'aide d'un dispositif de Soxhlet.

Matériel et Solvants :

- Chauffe ballon,
- Balance analytique de type SARTORIUS,
- Ballon de 1000 ml,
- Cartouche en tissu tergal
- Eprouvette graduée de 500 ml,
- Réfrigérateur
- Solvants : éther de pétrole, DCM, et méthanol.

Mode opératoire :

Nous avons utilisé 70 g de poudre pour 250 ml d'éther de pétrole, 200 ml de DCM et 250 ml de méthanol.

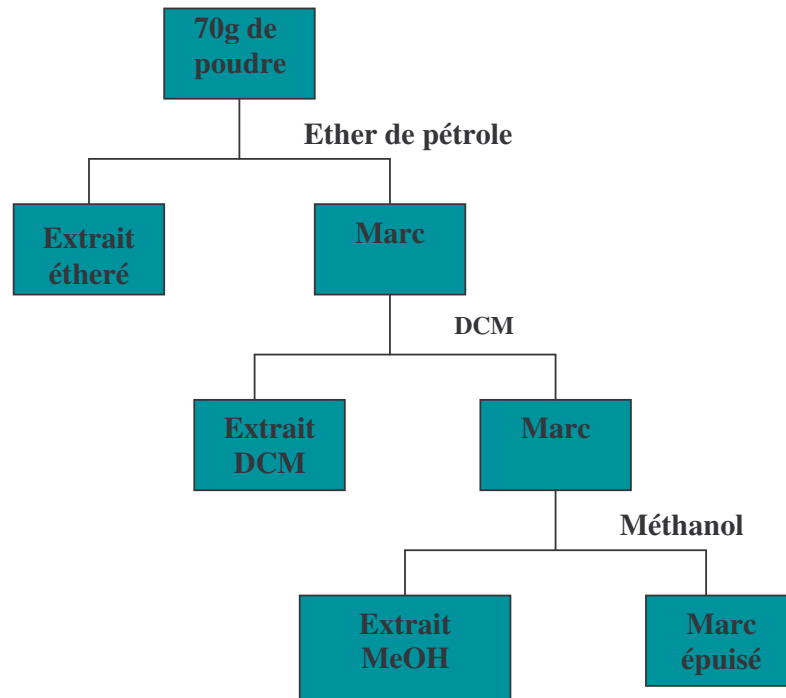


Figure n°8: Schéma d'extraction par les solvants organiques de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.



Figure n°9: Photo du Lyophilisateur utilisé pour sécher les extraits aqueux de *Syzygium guineense*.



Figure n°10: Photo du Rotavapor utilisé pour concentrer un extrait de *Syzygium guineense*.

2-7 Chromatographie sur couche mince :**Principe :**

La chromatographie sur couche mince est une méthode physico-chimique rapide de contrôle dont l'absorbant ou phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme de 0,25 mm d'épaisseur, d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliquée sur un support approprié (dans notre cas, nous avons utilisé une feuille d'aluminium). La phase mobile ou éluant migre à la surface de la plaque par capillarité. C'est une méthode analytique de contrôle qui, à chaque stade de séparation permet de :

- suivre l'efficacité des extractions avec différents solvants,
- suivre la composition des différents fractions obtenues au cours des séparations,
- faire le meilleur choix des solvants d'éluant des colonnes,
- vérifier la pureté des produits isolés.

Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, par exemple: fluorescence, coloration, Realising factor « Rf = facteur de rétention .

Matériels:

- une balance analytique de précision de type Sartorius,
- une cuve avec couvercle,
- un solvant de migration,
- un révélateur,
- une lampe à Ultra Violet,
- un crayon de papier,
- des éprouvettes graduées,
- micropipettes,
- une pince,
- plaque de silicagel 60F₂₅₄,
- pulvérisateur,
- une règle graduée,
- un séchoir,

Technique :

Solution à analyser : nous avons dissous 10 mg des extraits aqueux et hydro-alcoolique dans 1 ml d'un mélange de solution méthanol– eau (1-1) et 10 ml des extraits organiques dans un 1 ml d'acétate d'éthyle.

Dépôt : Nous avons déposé 10 µl de chaque solution à l'aide d'une micropipette sur une plaque de CCM.

Migration :

Nous avons placé des plaques dans les cuves de développement dans lesquelles se trouvait un système de solvants appropriés appelés phase mobile, à environ 0,5 cm de hauteur, pour chacun. Pour la migration, nous avons choisi le système Butanol Acetic acid Water (BAW) dans les proportions 60-15-25 pour les extraits aqueux, hydro-alcoolique et pour l'extrait dichlorométhane nous avons choisi le système ligroïne-acetate d'éthyle (1- 1).

Révélation :

L'observation a été faite à l'UV 254 et 366 nm et la révélation a été faite avec le réactif de Godin ou $AlCl_3$. Nous avons déterminé le facteur de rétention (Rf) pour chaque extrait.

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

3 LES TESTS BIOLOGIQUES :

Ces tests ont été réalisés sur les souris sauf le test antioxydant. Nous avons réalisé des tests *in vivo* (tests de transaminases, hémogramme, anti-inflammatoire et de toxicité) et un test *in vitro* (test antioxydant).

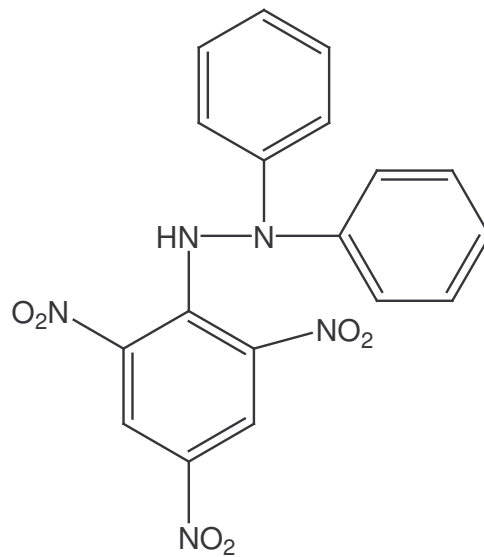
3-1 Test antioxydant :

Nous avons utilisé la méthode de Takao et coll, 1994.

◆ Test sur CCM par réduction du radical 1,1-diphényl-2-picryl hydrazyle : DPPH

Le DPPH est un radical stable présentant une absorption spécifique à 527 nm qui lui confère une couleur violette mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux.

Mode opératoire: Nous déposés nos extraits sur des plaques de CCM de gel de silice GF254 en aluminium et nous fait migré Butanol Acetic acid Water (B.A.W.) dans les proportions 60-15-25. Les chromatogrammes sont giclées après séchage avec une solution méthanolique à 2mg/ml de DPPH. Les activités antiradicalaires apparaissent sous formes de spots de couleur jaune-blanc sur un fond violet.



(Chevalley, 2000)

DPPH

Animaux

Il s'agit des souris mâles et femelles de masse comprise entre 24 et 30 g.

Origine : souche non consanguine sélectionnée à partir de la lignée CF1 (Carworth Farms Souche 1).

Dénomination : OF1 (Oncins France Souche 1).

Ces souris ont été fournies par le Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie.

3-2 Effet du décocté aqueux sur le métabolisme, la masse et certains paramètres biologiques des souris :

Généralités du suivi des souris :

Notre étude a eu lieu sur 20 souris (10 femelles et 10 mâles). Ces souris étaient classées en deux lots (un lot traitant et un lot témoin) de dix souris dont cinq femelles et cinq mâles.

Le lot traité recevait une dose de 100mg/kg du décocté aqueux (soit 0.92g/kg de poudre).

Le témoin recevait uniquement de l'eau distillée.

Le volume administré était de 0.025ml/g.

Le suivi a duré 3 semaines dont 5 jours d'administration de produit et 2 jours de repos par semaine.

Durant le suivi la quantité de nourriture consommée était calculée et le volume hydrique mesuré.

Les souris étaient pesées chaque jour juste avant l'administration.

Après le traitement, les souris ont été sacrifiées et les organes (reins, rates et foies) ont été prélevés, pesés et conservés dans le formol à 10% pour des études anatomopathologiques.

Des prélèvements de sang ont été faits et ont servi pour différentes analyses (hémogramme, transaminases).

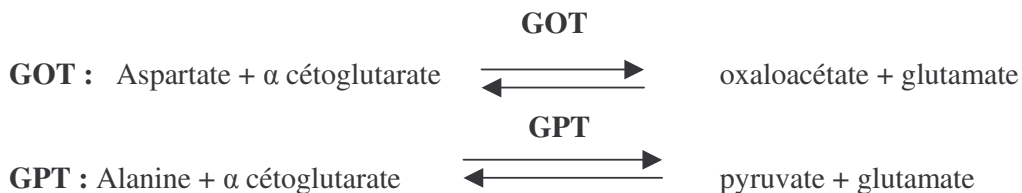


Figure n°11 : Photo d'administration par voie orale de l'extrait aqueux de *Syzygium guineense*.

◆ **Test de transaminase** (Reitman et coll. 1957) :

Il a été réalisé au laboratoire d'analyse de biochimie à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

Principe : Détermination colorimétrique de l'activité GOT ou GPT selon les réactions suivantes :



Le pyruvate et l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4-dinitrophényldrazones.

Dosage ou méthode d'analyse:

Les échantillons ont été prélevés sur tube sec et centrifugés pour obtenir des sérums.

Nous avons préparé deux tubes pour chaque sérum de la manière suivante :

Dans le tube N°1 mettre 1 ml du réactif 1 et dans le tube N°2 mettre 1 ml du réactif 2. Laisser incuber pendant 5 mn à 37°C. Ajouter dans chaque tube 0,2 ml de sérum. Mélanger et mettre à 37°C pendant 1 h pour le premier tube (GOT) et 30 mn pour le deuxième tube (GPT). Ensuite ajouter à chaque tube 1 ml du réactif 3, laisser pendant 20 mn à la température ambiante du laboratoire, puis ajouter dans chaque tube 10 ml de soude à 0,4 N. Mélanger et attendre 5 mn puis faire la lecture au photomètre à 505 nm.

◆ **Test de l'hémogramme** (Tangara, 2004) :

L'hémogramme est réalisé sur du sang total prélevé sur citrate trisodique à l'aide d'un automate (ABX MICOSot) qui donne directement les valeurs des huit paramètres suivants : globules blancs, globules rouges, taux d'hémoglobine, hématocrite, plaquettes, volume globulaire moyen, taux globulaire moyen en hémoglobine, concentration globulaire moyen en hémoglobine. C'est un appareil qui donne les résultats en 86 secondes après aspiration de l'échantillon.

3-3 Détermination de l'activité anti-inflammatoire :

Elle a été réalisée à l'animalerie du Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie(C.N.A.M). Nous avons utilisé la méthode de l'œdème de la patte de souris (Winter et al., 1962).

Principe :L'injection de carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de la souris entraîne l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne. L'intensité de cet œdème, qui atteint son maximum de développement en 5 heures, est évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte (par rapport au volume initial). L'administration préventive par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème.

Réactifs :

Solution d'indométacine dans l'eau physiologique à la dose de 8 mg/kg

Solution de carraghénine à 1% dans l'eau physiologique (1g de carraghénine poudre dans 100 ml d'eau physiologique)

Solution du décocté aqueux de *Syzygium guineense* dans l'eau distillée à la dose de 100mg/kg et 200mg/kg d'extrait.

Appareils et instruments

Le Plétysmomètre UGO BASIL 71.40, c'est un appareil de mesure du volume de la patte de la souris soit en valeur absolue, soit en valeur relative par comparaison avec la patte non traitée. Il est composé d'une cellule de mesure en perspex contenant de l'eau dans laquelle plonge la patte de la souris et la différence du niveau de l'eau après immersion de la patte est mesurée par un transducteur de conception, elle est affichée sur un appareil numérique.

- La canule gastrique
- La balance pèse souris
- Des seringues graduées à aiguilles
- Les cages
- Les gants

Méthode : Test d'inhibition de l'œdème de la patte de la souris à la carraghénine

Protocole : Mettre les souris à jeun pendant 18 heures avec accès libre à l'eau.

Au moment de l'expérimentation, peser les souris et les répartir en quatre lots homogènes si possible de dix souris (cinq males et cinq femelles).

Déterminer les volumes au temps T_0 des pattes (V_0), pour cela remplir le réservoir d'eau de l'appareil (R), mettre l'appareil sous tension et régler correctement le niveau d'eau contenue dans la cellule de mesure (CM) avec la vis (V).

Tremper ensuite la patte de la souris dans la CM, le transducteur (T) permet d'obtenir la correspondance du volume de la patte en lisant directement le résultat sur l'écran numérique (EN). Enfin fixer le résultat en appuyant sur la pédale (P).

Administrer les différents produits par voie orale de la manière suivante :

Lot témoin 1: 0,025 ml/g de souris d'eau distillée

Lot 2 (lot de référence) : la solution d'indométacine à la dose de 8 mg/kg

Lot traité 3: la solution d'extrait à la dose de 100 mg/kg

Lot traité 4: la solution d'extrait à la dose de 200 mg/kg

NB : les résultats du lot témoin et de référence ont servi de juger l'effet de notre extrait pour les deux doses.

Une heure après l'administration, injecter 0,005 ml de la solution de carraghénine par voie sous-cutanée au niveau de l'aponévrose de la patte postérieure droite de la souris. Il ne doit pas sortir de liquide après l'injection de la carraghénine.

Faire les différentes mesures de volume de la patte sur une période donnée à intervalle de temps régulier.

Nous avons effectué une étude cinétique de 5h avec 1h d'intervalle, cela en référence aux résultats obtenus avec un lot témoin essai.

Les résultats obtenus ont permis d'apprécier l'effet du produit sur l'évolution de l'œdème chez la souris.

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

Le pourcentage d'inhibition (%Inb) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de souris traitées par rapport au lot témoin. Il est donné par la formule suivante :

$$\% \text{Inb} = \frac{\text{Po} - \text{Pt}}{\text{Po}} \times 100$$

Avec Po = % moyen d'augmentation de la patte du témoin

Pt = % moyen d'augmentation de la patte traité

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

$$\% \text{Aug} = \frac{\text{Vt} - \text{Vo}}{\text{Vo}} \times 100$$

Avec Vo = volume initial de la patte de la souris

Vt = volume après injection de la carraghénine et traitement



Fig. 12: Test de l'activité anti-inflammatoire



Figure 13 : Le Plétysmomètre

3-4 Etude de la toxicité aiguë par voie orale:

Principe : Les souris préalablement mises à jeûn pendant 17 h sont regroupées par lot de dix pour chaque dose (5 mâles et 5 femelles) et un lot de dix souris comme témoin de même type.

Nous avons administré par voie intra gastrique des doses de 400; 800; et 1600 mg/kg d'extraits respectivement à trois lots de 10 souris. L'extrait a été repris avec de l'eau distillée et administré aux souris par gavage avec un volume de 0,025 ml de solution par gramme de souris. Le lot témoin a reçu le même volume d'eau distillée. Après administration, l'observation a été faite pendant 2 h avant de les donner à manger (cela pour observer le cas de mort immédiat). Nous avons observé les souris pendant 72 h afin de noter les symptômes de l'intoxication et la létalité.



RESULTATS

1- Données phytochimiques :**1-1 Réactions en tube :**

Tableau n°3 : Résultats des réactions en tubes de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.

Recherche	Résultats
Tanins catéchiques: réaction de Stiasny	+ + Précipité rouge
Tanins galliques: réaction de Stiasny	+ + + Bleu-noirâtre
Stérols et triterpènes: (Liebermann)	+ + + Anneau violet
Leucoanthocyanes	+ + Rouge cerise
Saponosides	+ Mousse visible

Le nombre de « + » est fonction de l'intensité de la coloration et/ou des précipités. Les réactions ont été positives avec les tanins, les stérols et triterpènes et les leucoanthocyanes. Mais il a été observé l'absence d'hétérosides, d'oses et holosides, de composés réducteurs, d'alcaloïdes, d'anthocyanes, des coumarines, des mucilages, des anthracénosides, des caroténoïdes et des flavonoïdes.

1-2 Dosages:**1-2-1 Substances extractibles par l'eau :**

Masse de la capsule vide (n) = 31.02 g ;

Masse de la capsule avec le filtrat (n') = 31.06 g

Les substances extractibles par l'eau pour la poudre de feuilles de *Syzygium guineense* ont été de 4%.

1-2-2 Substances extractibles par l'éthanol à 80° :

.n = 30.99 g n' = 31.11 g

Les substances extractibles par l'éthanol pour la poudre de feuilles de *Syzygium guineense* ont été de 12%.

1-2-3 Cendres :**. Cendres totales :****Tableau n°4 :** Pourcentage des cendres totales dans la drogue

Tare	Masse avant calcination	Masse après calcination	Masse drogue essai	Masse cendre	% cendres
15.55	18.49	15.68	2.94	0.13	4.18
13.46	16.34	13.58	2.88	0.12	4.24
24.15	27.44	24.29	3.29	0.14	4.33

Pour la teneur moyenne (TM), nous avons utilisé la formule suivante :

$$TM = \frac{4.18 + 4.24 + 4.33}{3} = 4.25$$

. Cendres sulfuriques :

Le pourcentage des cendres sulfuriques est de 7,20%. Cette valeur est légèrement élevée ce qui peut se justifier par une richesse en éléments minéraux de notre poudre.

.Cendres insolubles dans HCl à 10% : ou cendres chlorhydriques

Le pourcentage des cendres insolubles dans HCl à 10% est de 1.93

1-2-4 L'eau :**. Méthode pondérale :****Tableau n°5 :** Pourcentage d'eau dans la drogue

Tare	Masse avant étuve	Masse après étuve	Masse drogue essai	Masse eau	% eau
12.58	15.04	14.89	2.45	0.15	6.00
13.23	16.73	16.52	3.50	0.21	6.00
12.65	16.99	16.74	4.33	0.25	5.80
13.36	17.44	17.16	4.08	0.27	6.80
12.57	16.26	16.05	3.68	0.20	5.60

Pour la teneur moyenne en eau (TME), nous avons utilisé la formule suivante :

$$\text{TME} = \frac{6 + 6 + 5.8 + 6.8 + 5.6}{5} = 6.04$$

Le pourcentage de l'eau par la méthode pondérale est = **6.04%**

.Méthode azéotropique :

$$V_i = 0.75 \text{ et } V_f = 1$$

Le pourcentage d'eau par la méthode azéotropique est de **5%**.

Le pourcentage d'eau est inférieur à 10% par les deux méthodes, ce qui pourrait conférer à notre drogue une bonne conservation.

Tableau n°6 : Tableau récapitulatif des différents dosages effectués sur la poudre.

Dosages	Pourcentages
Substances extractibles par l'eau	4
Substances extractibles par l'éthanol à 80%	12
Saponosides: indice de mousse	<100
Eau	
Méthode pondérale	6.02
Méthode azéotropique	5
Cendres totales	4.25
Cendres sulfuriques	7.20
Cendres insolubles dans HCl à 10%	4.16

1-3 Extractions : Le rendement des extractions, l'aspect et la couleur des extraits sont reportés dans le tableau n°7.

Tableau n°7: Résultats des différents extractions de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.

Extraits	Rendement	Aspect	Couleur
MacEtOH	6.56	Friable	Marron
DecH ₂ O	11.00	Masse	Noir brillant
MacCHCl ₃	18.50	Cristaux	Verdâtre
MacH ₂ O	16.00	Cristaux	Noirâtre
DigH ₂ O	8.22	Collant	Chocolat
ExtEP	1.50	Pâteux	Noir
ExtMeOH	5.10	Gélatineux	Noir
ExtDCM	2.46	Gélatineux	Noir

Le rendement le plus élevé est obtenu avec le macéré chloroformique avec 18,50 ; et le plus faible rendement est obtenu avec l'éther de pétrole au Soxhlet avec 1.50, cela peut s'expliquer par le fait que l'éther de pétrole est un solvant organique très volatil et juste utilisé pour dégraisser les drogues.

1-4 Chromatographie sur couche mince :

La chromatographie sur couche mince des extraits de *Syzygium guineense* a permis de séparer certaines substances qui ont apparues sous formes de tâches visibles (UV254 nm), de

fluorescences (UV366 nm) ou colorées (Godin, AlCl₃, le réactif de Dragendorff) ; (Tableau n°10).

Les tâches apparaissent sous différentes formes selon le mode de révélation.

Tableau n°8: Résultats de la CCM selon le solvant B.A.W. (60 :15 :25).

Extraits	Rf	254nm	366nm	Godin	AlCl ₃
DecH₂O	0.06	visible	verdâtre	violet	
	0.12	visible	-	violet	orange
	0.30	-	blanc	violet	
	0.50	visible	rose	-	jaune
DigH₂O	0.08	visible	-	-	
	0.12	visible	gris		
	0.52	-	rose		
	0.90	-	blanc	brun	
MacH₂O	0.08	visible	blanc	violet	jaune
	0.13	-	violet	rose	
	0.45	visible	blanc	violet	
MacEtOH	0.13	visible	blanc	violet	
	0.27	visible	-	jaune	jaune
	0.40	-	bleu	rose	
	0.65	visible	blanc	-	jaune
	0.77	-	rouge vif	rose	orange
	0.92	visible	orange	violet	
ExtMeOH	0.21	visible	blanc	brun	
	0.40	visible	-	violet	
	0.58	visible	gris	brun	jaune
	0.76	-	violet	violet	
	0.92	visible	blanc	brun	

A 254 nm la plupart des constituants de nos extraits aqueux et alcooliques sont visibles et apparaissent sous forme de taches noires. A 366 nm la majorité des tâches apparaissent en blanc.

Après révélation avec le réactif de Godin, les taches noires et blanches sont colorées en brun, violet, rose et jaune.

Avec AlCl_3 nous avons observé trois taches jaunes et orange avec l'extrait éthanolique (flavonoïdes).

Le réactif de Dragendorff n'a donné aucune coloration.

Tableau n°9 : Résultats de CCM selon le solvant ligroïne : acétate d'éthyle (1 :1)

Extraits	Rf	254nm	366nm	Godin	AlCl_3
MacCHCl₃	0.06	visible	blanc	brun	
	0.12	visible	-	-	jaune
	0.43	-	rouge	violet	
	0.50	visible	rouge	brun	
	0.55	-	blanc	brun	
	0.65	-	-	brun	
	0.71	visible	rouge	violet	
	0.80	visible	orange	-	
	0.87	jaune	rouge	bleu	
	0.90	vert	rouge	violet	
	0.96	visible	rouge	brun	
ExtDCM	0.05	visible	blanc	-	jaune
	0.07	-	blanc		
	0.11	visible	-	brun	
	0.15	visible	-	brun	
	0.40	visible	rouge	-	
	0.55	-	blanc	bleu	
	0.61	-	-	-	
	0.72	visible	-	violet	jaune
	0.81	visible	brun	-	
	0.85	visible	rouge	-	
0.91	visible	orange	violacé		
ExtEP	0	visible	-	-	

0.03	-	bleu	brun	
0.43	visible	-	brun	
0.48	visible	blanc	-	
0.72	visible	-	violet	Vert
0.80	visible	blanc	-	
0.83	visible	blanc	brun	
0.88	visible	bleu		

La révélation avec le réactif de Dragendorff n'a donné aucune coloration.

L'observation à 254 nm a donné des tâches visibles et la plus part des extraits à 366 nm a donné de taches rouges. La révélation au réactif de Godin a donné des taches brunes, violettes (triterpènes) et bleues. Avec $AlCl_3$ nous avons obtenu une coloration verte à $R_f = 0.72$ avec l'extrait étheré et des fluorescences jaunes (flavonoïdes).

2 Tests biologiques :

2-1 Test antioxydant:

Les chromatogrammes des extraits de feuilles de *Syzygium guineense*, révélés par une solution de DPPH à la concentration de 2mg/ml dans le méthanol, présentent des tâches jaunes sur un fond violet : ce sont des constituants, capables de réduire le radical DPPH oxydant, qui donnent des indications intéressantes pour une activité anti-radicalaire des extraits de feuilles de *Syzygium guineense*. L'extrait chloroformique n'a pas donné de résultat avec le radical DPPH.

Tableau n°10: Résultats du test antioxydant sur les extraits de feuilles de *Syzygium guineense*.

Extraits	Rf des substances actives
MacEtOH	0.20 ; 0.38 ; 0.42 ; 0.75
DecH ₂ O	0.20 ; 0.38 ; 0.75
MacCHCl ₃	0.30
MacH ₂ O	0.38 ; 0.75
DigH ₂ O	0.37 ; 0.75
ExtEP	0.18
ExtDCM	0.12

Tous nos extraits ont donné une activité antioxydante qui s'est manifestée par des tâches jaunes sur fond violet aux différents Rf indiqués.

Ainsi, les extraits aqueux et éthanolique ont présenté plus de substances qui réduisent le DPPH.

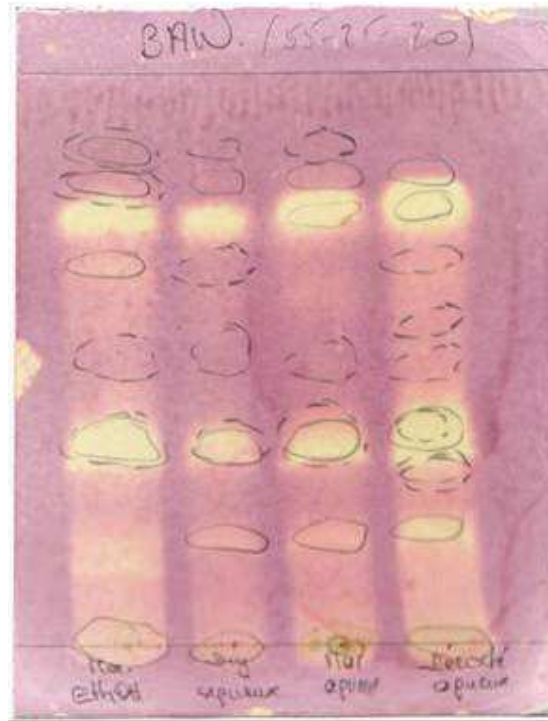


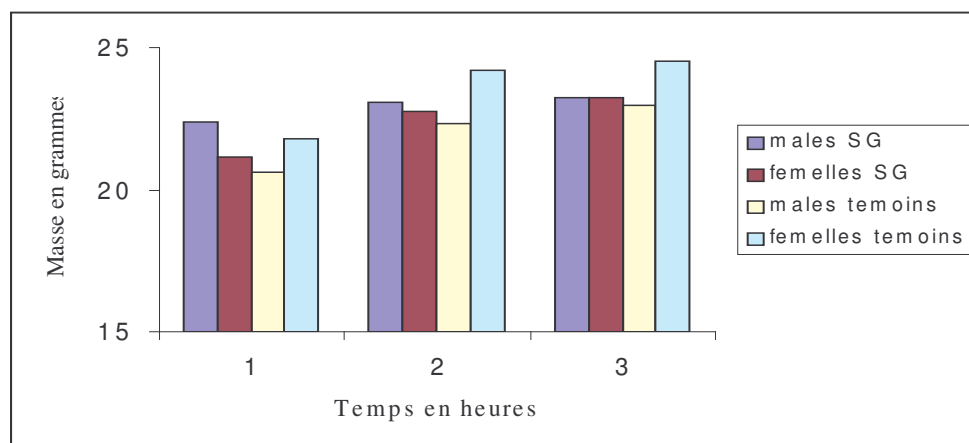
Figure n°11: Plaque de CCM des extraits présentant plus de tâches à activité antioxydante avec le DPPH des feuilles de *Syzygium guineense*.

2-2 Effet du décocté aqueux sur le métabolisme, la masse et certains paramètres**biologiques des souris:**

Une souris de 20 g doit consommer 3 à 4 g d'aliment par jour, et 3 à 7 ml d'eau (Amalia et coll, 1991).

Tableau n°11 : Variation des masses des souris

Temps	Masse en gramme			
	mâles traités	femelles traitées	mâles témoins	femelles témoins
Semaine 1	22.39	21.14	20.62	21.80
Semaine 2	23.05	22.78	22.35	24.18
Semaine 3	23.21	23.24	22.97	24.51

**Figure n°14 :** Variation des masses des souris soumises

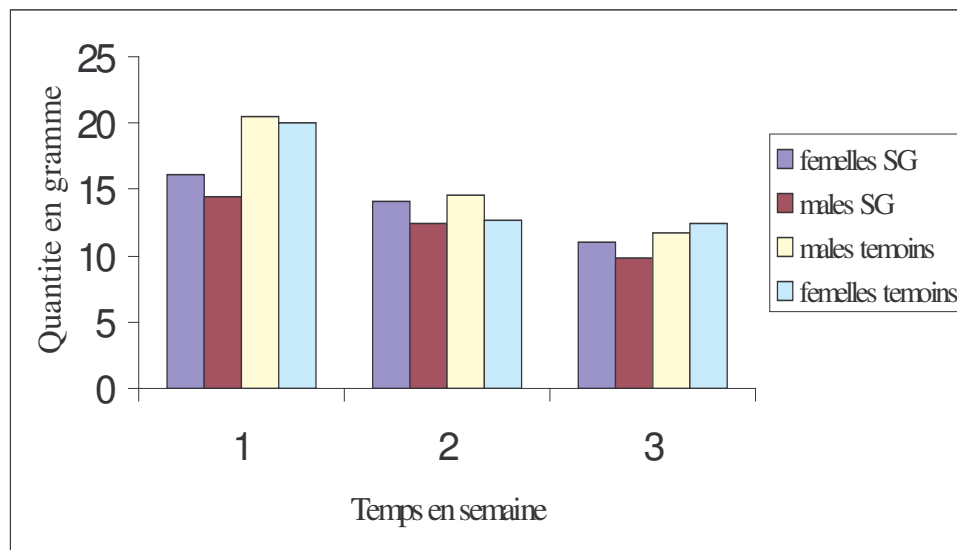
males SG : mâles traités avec *Syzygium guineense*

femelles SG : femelles traitées avec *Syzygium guineense*.

Nous avons noté une croissance dans les deux cas mais elle a été plus remarquable dans le lot témoin.

Tableau n°12 : Consommation moyenne d'aliments en grammes par lot de cinq souris.

Temps	Quantité en gramme			
	mâles traités	femelles traitées	mâles témoins	femelles témoins
Semaine 1	16.06	14.47	20.54	19.98
Semaine 2	14.67	12.41	14.38	12.70
Semaine 3	10.96	9.80	11.77	12.39



males SG: mâles traités avec *Syzygium guineense*

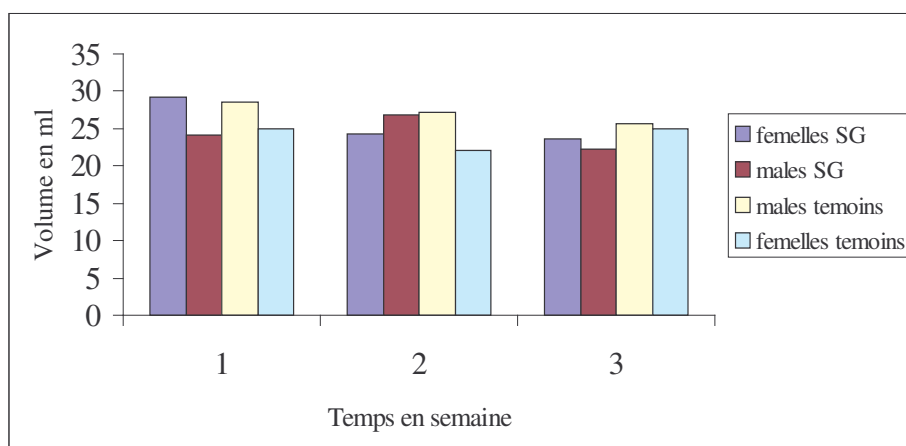
femelles SG : femelles avec *Syzygium guineense*

Figure n°15 : Consommation moyenne d'aliments en grammes par lot de cinq souris.

Nous constatons que la consommation des témoins a augmenté dans la première semaine et une diminution de consommation a été observée dans les deux cas après cette semaine. La consommation moyenne était de 3.17 g par souris pour les traitées et 4 g par souris pour les témoins à la première semaine et 2.3 g pour les traitées, 2.4 g pour les témoins à la troisième semaine

Tableau n°13 : Consommation moyenne d'eau en ml par lot de cinq souris.

Temps	Volume en ml			
	mâles traités	femelles traitées	mâles témoins	femelles témoins
Semaine 1	29.28	21.10	28.00	25.00
Semaine 2	24.28	26.78	27.14	22.14
Semaine 3	23.57	22.30	25.71	25.00



males SG : mâles traités avec *Syzygium guineense*

femelles SG : femelles traitées avec *Syzygium guineense*

Figure n°16: Consommation moyenne d'eau en ml par lot de cinq souris.

Nous constatons que la consommation d'eau a augmenté chez les femelles traitées à la première semaine, et demeure stationnaire dans les deux cas avec le temps.

La consommation d'eau était de 5.5 ml par souris pour les traitées et 5.3 ml par souris pour les témoins à la première semaine et 4.5 ml par souris pour les traitées et 5 ml à la troisième semaine

Tableau n°14: Résultats des masses des organes des souris témoins.

Souris	masse des souris	masse foie	masse rate	masse reins
1 male	25.2	1.013	0.096	0.200
2 male	25.4	0.828	0.088	0.234
3 male	22.4	0.894	0.099	0.175
4 male	27.4	1.012	0.090	0.204
5 male	22.3	0.932	0.118	0.180
6 femelle	22.4	0.790	0.084	0.150
7 femelle	22.3	0.843	0.081	0.178
8 femelle	24.5	1.108	0.077	0.243
9 femelle	21.4	0.854	0.060	0.144
10 femelle	24.5	1.014	0.122	0.196
M. moyennes	23.78±1.90	0.929 ±0.104	0.092±0.018	0.190±0.032
V.S	-	1.70-3.58	0.10-0.42	0.15-0.56

Les masses moyennes sont respectivement pour les souris, les foies, les rates, et les reins : 23.78g, 0.928g, 0.091g et 0.190g. On constate que les poids des organes ne sont pas en rapport avec la masse des souris.

Tableau n°15: Résultats des masses des organes des souris traitées avec le décocté aqueux

Souris	masse des souris	masse foie	masse rate	masse reins
1 mâle	25.1	0.942	0.089	0.184
2 mâle	22.5	0.873	0.104	0.181
3 mâle	24.4	0.950	0.076	0.170
4 mâle	22.9	0.843	0.086	0.149
5 mâle	22.9	0.842	0.085	0.150
6 femelle	23.8	0.963	0.078	0.153
7 femelle	21.9	0.956	0.059	0.143
8 femelle	22.9	1.141	0.105	0.186
9 femelle	24.7	0.954	0.067	0.108
10 femelle	23.3	0.985	0.076	0.202
M. moyenne	23.4±1.0	0.946±0.085	0.083±0.014	0.163±0.027
V.S	-	1.70-3.58	0.10-0.42	0.15-0.56

V.S : Valeurs standards.

Les masses moyennes sont respectivement pour les souris, les foies, les rates, et les reins : 23.5g, 0.956 g, 0,082g, et 0,164g.

- ♦ **Transaminases :** Nous avons effectué le dosage des transaminases sur le sang de dix souris femelles dont cinq traitées et cinq témoins. Les résultats sont représentés dans le tableau ci après.

Tableau N°16:Résultats du taux des transaminases des souris témoins et traitées.

Sérum	GOT	GPT
5 souris témoins	47	30
5 souris traitées	46	31

La différence de valeurs des GOT et GPT entre les souris traitées et les souris témoins n'est pas significative.

♦ **Hémogramme :****Tableau n°17 :** Résultats de l'hémogramme des souris traitées.

Paramètres	Valeurs traitées	Valeurs standards	Unité
GB	8.4	10	10 ³ /mm ³
GR	>10	9	10 ⁶ /mm ³
Pla	502	-	10 ³ /mm ³
HGB	16.2	10-19	g/dl
HCT	47.4	-	%
VGM	46	-	µm ³
TGMH	15.9	-	pg
CGMH	34.2	-	g/dl
Neutrophiles	40	10-40	%
Lymphocytes	60	35-90	%

Nous n'avons pas pu déterminer la valeur des globules rouges à cause de leur nombre plus élevé que celui des humains. Les globules blancs des souris traitées sont légèrement inférieurs à la normale.

2-3 Test anti-inflammatoire :**Evaluation de l'œdème :**

Nous avons évalué l'œdème en fonction du volume de la patte de la souris tout au long de l'expérience.

Tableau n°18: Variation des volumes moyens des pattes de souris traitées avec l'indométacine, l'eau et le décocté aqueux de *Syzygium guineense*.

Produits	Dose	ΔV (ml) M \pm DS n = 10					
		T ₀	T _{1h}	T _{2h}	T _{3h}	T _{4h}	T _{5h}
E.D	0.025ml/kg	0.09 \pm 0.02	0.18 \pm 0.04	0.18 \pm 0.04	0.19 \pm 0.03	0.18 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03
Indo	8 mg/ml	0.12 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01	0.17 \pm 0.03	0.15 \pm 0.03	0.15 \pm 0.02	0.15 \pm 0.02
DecH₂O	100 mg/ml	0.12 \pm 0.02	0.18 \pm 0.02	0.17 \pm 0.03	0.18 \pm 0.03	0.18 \pm 0.03	0.16 \pm 0.04
DecH₂O	200 mg/ml	0.12 \pm 0.02	0.18 \pm 0.03	0.15 \pm 0.03	0.16 \pm 0.04	0.19 \pm 0.02	0.18 \pm 0.02

M : Moyenne de 10 souris

DS : Déviation standard

E.D : Eau distillée

Dec aq : Décocté aqueux

Indo : Indométacine

t : test Student

P < 0,01 statistiquement très significatif par rapport au témoin.

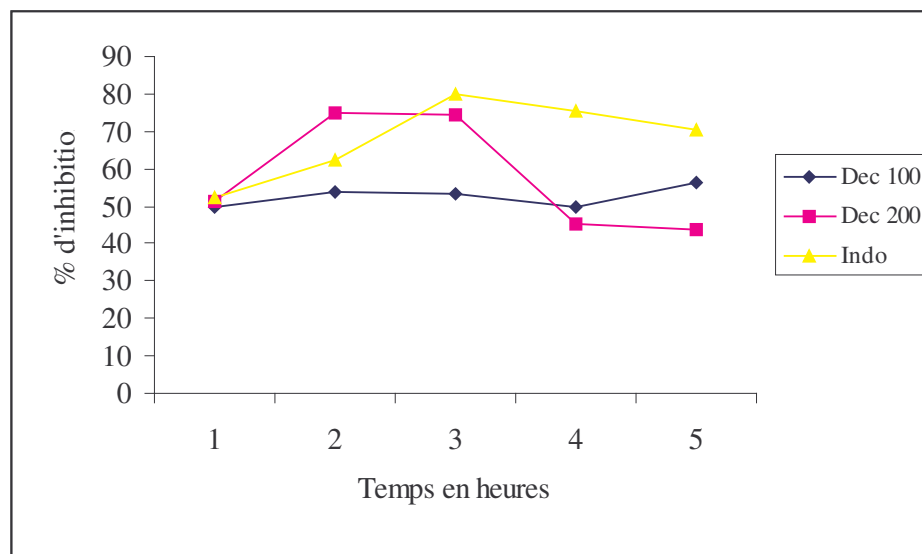
La différence d'augmentation du volume de la patte dans le temps entre les groupes traités et le groupe témoin est toujours statistiquement très significative selon le test de Student avec $P < 0,01$. Les extraits de *S. guineense* comme l'indométacine empêchent la formation de l'œdème

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

Tableau n°19: % d'inhibition de l'œdème des souris traitées avec l'indométacine et le décocté aqueux de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense*.

Produits	Dose mg/kg	% d'inhibition				
		1h	2h	3h	4h	5h
DecH ₂ O	100	49.58	53.89	53.21	49.85	56.25
DecH ₂ O	200	51.19	74.94	74.52	45.19	43.54
Indo	8	52.36	62.11	80.02	75.53	70.53

Les doses 100mg et 200mg du décocté aqueux correspondent respectivement à 0.92 g et 1.85 g de poudre. ($r = 10.82$). Le décocté à la dose 200 mg/kg agit déjà à la première heure, ce qui démontre un effet sur la phase primaire de l'inflammation. La dose 100 mg/kg ne donne un effet qu'à la cinquième heure. La dose 200 mg/kg donne un effet moindre que l'indométacine (**figure n°17**).



Dec 100 : Décocté aqueux à la dose 100 ; **Indo :** Indométacine

Dec 200 : Décocté aqueux à la dose 200

Figure n°17 : % d'inhibition de l'œdème des souris traitées avec l'indométacine et le décocté aqueux.

2-4 Toxicité aiguë :**Tableau n°20:** Détermination de la mortalité en fonction de la dose.

Produits	Dose g/kg	nombre de souris	Mortalité			nombre de morts	Pourcentage de mortalité
			24h	48h	72h		
DecH ₂ O	3.68	10	0	0	0	0	0
DecH ₂ O	7.38	10	0	1	1	1	10
DecH ₂ O	14.72	10	0	1	2	2	20
H ₂ O	0.025ml/kg	10	0	0	0	0	0

Nous constatons que la DL₅₀ du décocté aqueux des feuilles de *Syzygium* est supérieure à 1600 mg/kg de poids corporel, cette dose rapportée au rendement (r = 10.82) nous montre que cette DL₅₀ est supérieure à 14.72 g/kg de poudre.

Avec la dose 400 mg/kg (soit 3.68 g/kg de poudre), nous n'avons pas observé de mortalité ; la dose 800 mg/kg (7.38 g/kg de poudre) a donné un pourcentage de mortalité à la quarante huitième heure (soit 10%) et la dose 1600 mg/kg (14.72 g/kg de poudre) a entraîné la mort de deux souris en soixante douze heures soit une mortalité de 20%.



**ANALYSE ET
DISCUSSION**

ANALYSES ET DISCUSSION

Notre travail a porté sur l'identification des différents groupes chimiques, la recherche de l'activité antioxydante ; l'effet du décocté aqueux sur la masse corporelle, le métabolisme et la masse de certaines organes de souris ; l'activité anti-inflammatoire et la toxicité aiguë des extraits aqueux des feuilles de *Syzygium guineense* ; nous avons aussi évalué les transaminases et l'hémogramme des souris au cours de ce travail.

Dans la littérature cette plante est d'utilisations diverses ; c'est ainsi que les écorces de tronc sont légèrement antidiarrhéiques et l'absorption régulière du macéré d'écorces de tronc et des feuilles est recommandée aux femmes durant la gestation et plus particulièrement lorsqu'elles sont atteintes des maux de ventre (Kerharo et Adams, 1974).

Les réactions en tubes nous ont permis de mettre en évidence la présence de tanins galliques, de tanins catéchiques, de stérols et de triterpènes et de leucoanthocyanes ; par contre d'autres constituants comme les alcaloïdes, les flavonoïdes, les coumarines, les hétérosides n'ont pas été révélés. La teneur en eau, inférieure à 10% confère à notre poudre une meilleure conservation à long terme. Le pourcentage des cendres chlorhydriques est de 1.93 ce qui peut nous permettre de dire que notre drogue n'a pas été contaminée par la poussière ou le sable.

Nous avons réalisé trois extractions aqueuses (décoction, macération, digestion) et cinq extractions organiques (éthanol, méthanol, chloroforme, éther de pétrole, DCM). Cependant, les extractions avec l'éther de pétrole, le méthanol, et le dichlorométhane ont été réalisées au Soxhlet (extraction par les solvants à polarité croissante). La masse, l'aspect et les rendements de nos différents extraits obtenus sont ainsi notés dans le tableau n°7.

Les rendements des extraits aqueux ont été de 10.82% ; 16.36% ; et 8.22% respectivement pour la décoction, la macération et la digestion ; les extractions alcooliques ont donné 6.56% pour l'éthanol et 5.10% pour le méthanol et nous avons obtenu 18.50% ; 1.50% et 2.46% respectivement pour le chloroforme, l'éther de pétrole et le DCM.

Le macéré chloroformique a donné le plus fort rendement avec 18,85 alors que le plus faible est obtenu avec l'éther de pétrole au Soxhlet 1,5.

La CCM nous a permis de mettre en évidence d'autres constituants. L'observation des chromatogrammes des extraits de la plante à l'UV nous a permis de noter la présence de

constituants UV actives à 254 nm ; des fluorescences à 366 nm. La révélation avec le réactif de Godin nous a permis de confirmer la présence de stérols et triterpènes. Les tâches et les fluorescences jaunes après la révélation des chromatogrammes avec AlCl_3 nous informe sur la présence de flavonoïdes qui n'avaient pas été observés avec les réactions en tubes.

Pour l'évaluation des activités pharmacologiques, nous avons travaillé sur le décocté aqueux de feuilles de *Syzygium guineense*, mais le test antioxydant a concerné tous nos extraits.

Au cours du suivi des souris avec la dose de 100mg/kg pendant les trois semaines nous avons noté une augmentation de la masse corporelle dans les deux groupes (traité et témoin). Cependant, l'augmentation de masse corporelle chez le groupe témoin a été plus importante que le groupe traité.

Les transaminases des souris traitées étaient normales par rapport aux souris témoins. En effet une hypertransaminasémie peut faire soupçonner une hépatite virale mais ne peut pas être considérée comme un diagnostic sûr d'autant plus qu'il peut y avoir une hépatite virale avec transaminases normales. Comparativement à l'homme, nos souris ont donné des transaminases inférieures si bien dans le lot traité que dans le lot témoin.

L'administration du décocté aqueux a eu peu d'influence sur l'hémogramme des souris. Nous avons surtout noté une légère diminution des globules blancs. Les investigations doivent se poursuivre sur cette propriété pour une éventuelle utilisation dans les leucémies.

Le test antioxydant que nous avons réalisé sur des plaques de CCM a donné de nombreuses tâches anti-radicalaires dont les extraits les plus actifs ont été DecH₂O, DigH₂O, le MacH₂O et le MacETOH comme le montre la figure n°11. Les extraits éthanolique et le DecH₂O ont donné plus de tâches. La présence dans les feuilles de *Syzygium guineense* de certains composés identifiés pour leurs propriétés antioxydantes (tanins, flavonoïdes, leucoanthocyanes) peut expliquer cette activité. Ces substances antioxydantes rentrent dans l'arsenal thérapeutique de la lutte contre l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, l'asthme et les cancers (Chevalley, 2000).

Pour l'évaluation du test anti-inflammatoire nous avons utilisé le test d'inhibition de l'œdème de la patte postérieure de souris à la carraghénine avec le Plétysmomètre. Par ce principe notre extrait aqueux s'est révélé plus actif plus précisément à la deuxième heure avec la dose de 200 mg/kg. Ainsi, le décocté aqueux à la dose de 100 mg/kg et 200 mg/kg présente une inhibition de l'inflammation dans les premières phases.

Avec l'indométacine utilisée à la dose de 8mg/kg comme produit de référence, l'inhibition maximum de l'œdème a été de 80,02% à la troisième heure.

L'activité de la drogue est dose dépendante et moindre que celle de l'indométacine.

L'activité élevée de l'indométacine s'explique par le fait que c'est une molécule pure contrairement à l'extrait brut de *Syzygium guineense*. Cependant, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut peut s'expliquer en partie par la présence dans les feuilles de *Syzygium guineense* des composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes dont la présence a été révélée par la chromatographie sur couche mince (Bruneton, 1993).

Les tanins sont des substances chimiques reconnues pour leur pouvoir de fixation aux protéines avec une tendance à l'imperméabilité des couches externes et la protection des couches sous-jacentes. Ceci ajouté à leurs propriétés de retendre les tissus et de drainer les sécrétions excessives pourrait expliquer leur activité antidiarrhéique (Bruneton, 1993).

Les leucoanthocyanes, les stérols et triterpènes sont des composés phénoliques qui sont reconnus par leur très grande variété de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par la suite l'aspirine et à des substances plus complexes, ce qui pourrait expliquer les activités antipyrétique et anti-inflammatoire des phénols (Paul, 2001).

Pour l'étude de la toxicité, nous avons administré les doses de 400 ; 800 et 1600mg/kg d'extrait aqueux, correspondant respectivement à 3,68 ; 7,36 et 14,72 g/kg de poudre de feuilles de *Syzygium guineense*. Après observation à 72 heures, nous n'avons pas obtenu de mortalité avec la dose de 400 mg/kg, la dose de 800 mg/kg a donné une mortalité soit 10% et la dose de 1600 mg/kg deux mortalités soit 20%. Au regard de ces résultats, nous pouvons dire que notre drogue a une forte tolérance à l'égard des souris et que la dose létale 50 du décocté aqueux est supérieure à 1600 mg/kg correspondant à 14,72 g/kg de poudre.



CONCLUSION

Conclusion

Notre travail qui est une contribution à l'étude des activités biologiques et de la phytochimie de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense*, nous a permis de comprendre que le domaine des plantes demeure encore un domaine valable de recherche scientifique.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence dans notre échantillon, des tanins (galliques et catéchiques), des leucoanthocyanes, des stérols et triterpènes par des réactions en tubes.

L'indice de mousse est inférieur à 100.

Nous avons réalisé la chromatographie sur couche mince qui a confirmé la présence de certains composés mis en évidence par les réactions en tubes comme les stérols avec le réactif de Godin (tâches bleues).

Les résultats de nos travaux ne nous permettent pas de confirmer l'utilisation de la plante dans la malnutrition. Cependant, tous nos extraits ont donné une activité antioxydante et nous avons noté une activité anti-inflammatoire avec le décocté aqueux aux doses de 100 mg/kg et de 200 mg/kg. Cette dernière activité est dose dépendante et moindre que celle de l'indométacine.

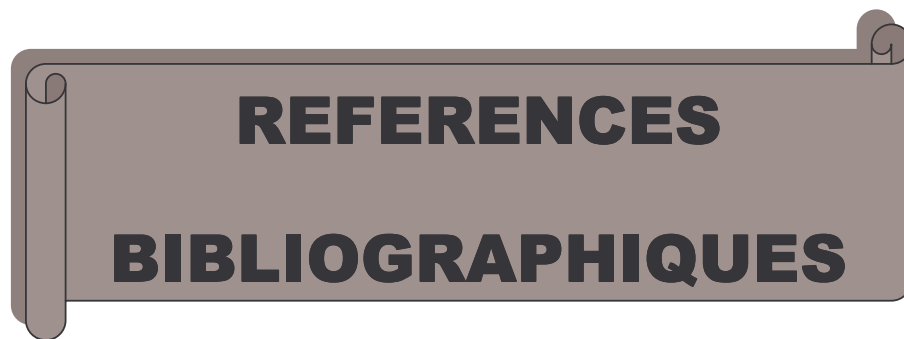
Ces activités peuvent être utiles pour renforcer l'organisme dans des situations déprimées.

Par ailleurs, une étude approfondie de la toxicité serait nécessaire pour parvenir à déterminer la dose létale 50.

Les extraits des plantes sont en général utilisés à l'état brut. C'est pourquoi nous avons utilisé des doses élevées pour nos tests comparativement au produit de référence. Pour palier à cela, il est préférable d'isoler les principes actifs des différents extraits de plantes et de les présenter sous une forme galénique acceptable. Une sensibilisation est encore nécessaire sur l'usage approprié de la médecine traditionnelle et l'importance de l'environnement.

Au regard des résultats de l'hémogramme des investigations pourraient se poursuivre pour une éventuelle utilisation de cette plante dans les leucémies.

Par le biais de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à mettre à la disposition de la population des médicaments à base de plantes médicinales efficaces et accessibles.



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Adjanohoum J.E.; Aké Assi L.; Floret J J.; Guinko S.; Koumaré M.; Ahyi A.; M.R.; Raynal J. (1979).** Médecine traditionnelle et Pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et florestiques au Mali. ACCT, Paris. 291 P.
2. **Ahamet S. (2003).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (*Balanitaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako; 117 P.
3. **Amalia G. ; Alessandra C. ; Ivan B. (1991).** L'ANIMALE DA LABORATORIO. Principi etico-scientifici, tecnici e legislativi. Manuali Tecnici N. 4.
4. **Assetou C. (2001).** Etude des plantes utilisées dans le traitement des plaies au Mali : Polysaccharides de *Biophytum petersinum* Klotz (*Oxalidaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako; 111 P.
5. **Boire A S. (2003).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques des écorces de racines de *Cussonia batteri* Seem. (*Araliaceae*). Thèse, Pharmacie; 110 P.
6. **Brunton J. (1993).** Pharmacognosie et Phytochimie des plantes médicinales 2^{ème} Edit. Technique et documentation, Paris, 914 P.
7. **Capron F. (1998).** Forme anatomo-clinique de l'inflammation, *in* trouble de la mortalité et de la sensibilité digestive. Revue du praticien, 20, 2273-2276.
8. **Cavin A. (1999).** Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, 241 P.
9. **Cohen Y. (1997).** Les anti-inflammatoires, *in* Abrégé de pharmacologie. Ed.4 Masson, Paris, 465 P .
10. **Colette E. (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Pharmacie Bamako. 147 P.
11. **Coyen Y. (1981).** Abrégés de pharmacologie. Ed 4, Masson, Paris, 355 P.
12. **Coyen Y. (1990).** Les médiateurs chimiques de l'inflammation, *in* Abrégé de pharmacologie. Ed.3 Masson, Paris, 350 P.
13. **Crété P. (1965).** Précis de botanique, systématique des angiospermes tome 2 ; 2^{ième} édition révisée. Faculté de Pharmacie de Paris-masson ; 429 P.

14. **Chevalley I. (2000).** Contribution à l'étude phytochimique des Saxifragacées : isolement d'antioxydant à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de Doctorat, Lausanne, 175 P.
15. **Degant P. (1929).** Sur la composition chimique des feuilles de *Syzygium owariensis*. J. pharm. Belge, 11, n°4, 57-59.
16. **Denis M. (1992).** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Edit. Karthala et A.C.C.T., paris. 474 P.
17. **Diallo D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medical plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolus* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse de Doctorat, Lausanne ; 221 P.
18. **Dieng C. (1993).** Contribution à l'étude de *Khaya senegalensis* (DESR.) A.JUSS (Meliaceae). Thèse Pharmacie, Dakar ; 109 P.
19. **Diouf A. (1991).** Etude des médiateurs et leurs rôles physiopathologiques. Thèse Pharmacie, Dakar ; 44 P.
20. **Dragstedt A. ; Lang B. (1957).** Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. Annales Pharmaceutiques Français, 11.
21. **Dupont CH. (1970).** Détermination de la DL₅₀ chez la souris (méthode de Litchfield et Wilcoxon). J. Pharmacol. Paris, 1, 407-412.
22. **Metou G. ; Faye B. ; Richard T. (1989).** Activité anti-inflammatoire chez le rat des écorces de racine de *Securidaca longepedunculata* Fres. (Polygalacées) in Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Vol.3, 41.
23. **Tsakala T.M. ; Penge O. ; Tonal ; Kengmene T. ; Lokangu L. ; Mesia K. (2001).** Essai de mise en forme pharmaceutique d'un extrait de *Syzygium guineense* (Willd) in Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines. Vol.15, 69.
24. **Elizabeth M. ; Okpato D. ; Evans F.J. (1996).** Anti-inflammatory and analgesic activity. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. Pharmacological methods in phytotherapy research. Edit. Wiley, England, 131-1154.
25. **Fané S. (2002).** Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur le marché du district de Bamako. Thèse pharmacie, Bamako, 130 P.
26. **Godin P. (1954).** A new spray reagent for paper chromatography of polyols and cetoses. Nature, 154, 134.
27. **Hans-jürgen.; Von Maydell. (1990).** Arbres et arbustes du Sahel leurs caractéristiques et leurs utilisations.

28. **Hostettmann K. (1989).** Xanthonés : Methods *in* plant biochemistry, vol.1. (Harbone,J.B.Edit.). Academic press, London; 508 P.
29. **Hostettmann K. (1997).** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse, 253 P.
30. **Igor Passi L B. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam. (*Rutaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako ; 133 P
31. **Joël P. ; Karine P. ; Karine C. ; Jean-Olivier D. (2002).** Nutrition et stress antioxydant. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante.
32. **Karber C. et Brehrens B. (1935).** Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am Zweckmässigsten Anzuordnen ? Arch. Exp. Path.Pharm., 177, 379-388.
33. **Keïta R. (2002).** Etude de l'activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles. Thèse Pharmacie, Bamako ; 107 P.
34. **Kerharo J. (1971).** Recherche ethnopharmacologique sur les plantes médicinales et toxiques de la pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Thèse Pharmacie, Dakar, 285 P.
35. **Kerharo J.; Adams G. (1974).** Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxique. Edit. Vigot et frères, Paris, 1011 P.
36. **Laborit H.; Drouet J.; Gerard J.; Jouany JM.; Narvaes C.; Niaussat P.; Weber B. (1960).** La réanimation métabolique: les structures à électrons célibataires. Leur emploi thérapeutique en neurologie et psychopharmacologie. Presse Médicale 1960; 68: 305-8.
37. **Letonturier P. (1996).** Abrégés immunology générale, 5^{ème} Edit. Masson : Paris-Milan. Barcelone ;160 P.
38. **Marc T. ; Gerard W. ; Denis L (2001).** Classification des anti-inflammatoires *in* Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4^{ème} Edition. 426 P.
39. **McCord JM.; Fridovich I. (1969).** Superoxide dismutase, an enzymic function for erythrocytes. J Biol Chem; 44:6049-55.
40. **Paris R. et Moyse M. (1965).** Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris, 412 P.
41. **Paul Iserin. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Identification-Préparation-Soins.
42. **Potterat O. (1997).** Antioxydants and free radical scavengers of natural origin. Current organic chemistry 1 ; 415-440.

- 43. Prin Lionel ; Hachulla Eric ; Hennache Bernadette ; Bonnotte Bernard ; Dubucquoi Sylvain ; Abbal Michel ; Faure Gilbert. (2003).** Réaction inflammatoire, Aspect biologique et clinique, Conduite à tenir. [http :www.assim.refer.Org/112402.Htm](http://www.assim.refer.Org/112402.Htm).
- 44. Reitman S. ; Frankel S. (1957).** Détermination colorimétrique de l'activité GOT et GPT, Am. J. Clin. Path. 28,56.
- 45. Ruckebusch Yves (1981).** Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, 2^{ème} Edit. Maloine S.A. Paris.
- 46. Sangaré D. (2003).** Etude de la prise en charge du paludisme par les thérapeutiques traditionnels dans les aires de Kendié (Bandiagara) et de Finkolo AC (Sikasso). Thèse Pharmacie, Bamako ; 105 P.
- 47. Sidibé F. (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Stereospermum kunthianum* Cham. (*Bignoniaceae*). Thèse de Pharmacie, Bamako ; 79 P.
- 48. Takao T. ; Kitatani F. ; Watanabe N. ; Yagi A. and Sakata K. (1994).** A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. Brusci. Brotech-Brochem, 58, 1780-1783.
- 49. Tangara O. (2004).** Co-infection hépatite B et hépatite C chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse de pharm. Bamako; 57 P
- 50. Timbo B. (2003).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl (*MELIACEAE*). Thèse de Pharmacie, Bamako. 108 P
- 51. Tolo A. (2002).** Etude des activités biologiques et de la toxicité des écorces de racine de *Securidaca longepedunculata* Fres. (*Polygalaceae*). Thèse Pharmacie ; 110 P.
- 52. Traore D. (1983).** Médecine et Magie Africaine. Edit présence Africaine. Paris ; 569 P.
- 53. Traoré I. ; Nebout Max. (1983).** Formules et techniques à partir des matières premières locales concernant la nourriture des souris d'expérimentation en pays tropicaux. Acta leprologica, 1, 3.
- 54. Valette G. (1972).** Précis de pharmacodynamie, 3^{ème} Edit. Masson, Paris ; 113 P
- 55. Wagner H. ; Bladt S. (1996).** Plants drug analysis. A thin layer chromatography Atlas. Edit. 2 Springer. Munich, 384 P.
- 56. Winter C.A. ; Risley E.A. ; Nuss G.W. (1963).** Carragenine-induced edema in ind-paw of rat as an assay for anti-inflammatory drug. Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 141, 369-373.
- 57. Yamasaki T. ; Li ; L ; and Lau ; B ;H. (1994).** Garlic compounds protect vascular endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidant injury. Phytother. Res. 8, 408.
- 58. Yvan T. (1997).** Pharmacologie 8^{ème} Edit. Masson. Paris-Milan-Barcelone ; 388 P.



ANNEXES

Annexe n°1 : Composition des réactifs➤ **Réactif de Dragendorff :**

Nitrate de Bismuth pulvérisé.....	20,80 g
Iode.....	38,10 g
Iodure de sodium anhydre.....	200 g
Eau distillée.....	600 cc

Agiter pendant 30 mn.

➤ **Réactif de Godin :**

Solution A

Vanilline 1 g + 1000 ml d'éthanol

Solution B

Acide perchlorique 3 cc + eau distillée 100 cc

Mélanger les 2 solutions au moment de l'emploi

Ensuite pulvériser les plaques avec une solution de H₂SO₄ 10%

➤ **Liqueur de Fehling :**

Réactif à chaud

Solution A

CuSO₄.....35 g

Eau distillée..... 500 cc contenant 5 cc d'H₂SO₄

Laisser refroidir puis compléter à un litre avec de l'eau distillée

Solution B

Sel de Seignette..... 150 g

Eau distillée.....500 cc

Refroidir puis ajouter 300 cc de lessive de soude non carbonatée, compléter à un litre avec de l'eau distillée.

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

➤ **Réactif de Guignard :**

Préparation du papier picrosodé

Acide picrique.....1 g

Carbonate de sodium..... 10 g

Eau distillée.....100 cc

➤ **Réactif de Raymond Marthoud :**

1-3 meta dinitrobenzène.....1 g

Ethanol 96° QSP.....100 cc

➤ **Réactif de Kedde :**

Acide dinitro 3-5 benzoïque.....1 g

Ethanol 96° QSP.....100 cc

➤ **Réactif de Baljet :**

Acide picrique.....1 g

Ethanol 50° QSP100 cc

➤ **Réactif de Valsler Meyer :**

Iodure de potassium25 g

Chlorure mercurique..... 6,77 g

Eau distillée250 cc

Annexe 2 : Alimentation des souris

Formule pour la nourriture des souris (Traoré et Nebout, 1983)

La formule pour l'alimentation des souris a été la suivante :

Farine de maïs.....	50 kg
Pâte d'arachide.....	20 kg
Son de mil	17.5 kg
Lait en poudre	7,0 kg
Farine de poisson.....	3,0 kg
Feuilles de salade pilées	2,0 kg
Sel (sel gemme).....	0,5 kg
Eau q s p /100 kg.....	38 l

Annexe n°3 : Composition des réactifs de la transaminase : (Reitman, 1957)

Réactif	Composition	Concentration
Réactif 1 substrat GOT	tampon phosphate pH 7.5 aspartate α cetoglutarate	85 mmol/l 200 mmol/l 2 mmol/l
Réactif 2 substrat GPT	tampon phosphate pH 7.5 alanine α cetoglutarate	95 mmol/l 200 mmol/l 2 mmol/l
Réactif 3 Réactif de coloration	2.4 dinitropénylhydrazine	1 mmol/l
Réactif 4 étalon	pyruvate	

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom: DIALLO

Prénom: Amadou

Titre du thèse: Etude phytochimique et des activités biologiques de la poudre de feuilles *Syzygium guineense* (Willd).

Année de soutenance: 2004-2005

Ville de la soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS

Résumé :

Notre travail a porté sur l'étude de la phytochimie et des activités biologiques de la poudre de feuilles de *Syzygium guineense* qui est une plante de la famille des Myrtacées. Elle est caractéristique des rivières et des forêts galeries en zone soudano-guinéenne.

Les grands groupes chimiques ont été déterminés par les réactions en tubes et confirmés par la CCM. Nous avons réalisé des extractions hydro-alcooliques et organiques. Les extractions avec les solvants à polarité croissante ont été réalisées au Soxhlet. Nous avons dosé la teneur en eau et des cendres.

L'activité antioxydante a été observée dans tous nos extraits.

Avec le décocté aqueux, nous avons noté une légère diminution des globules blancs chez la souris.

Ce décocté aqueux à la dose 200 mg/kg a donné une activité moins élevée que l'indométacine à la dose 8 mg/kg.

L'étude de toxicité a révélé une tolérance de l'extrait aqueux chez les souris.

Mots clés : Médecine traditionnelle, Plantes médicinales, *Syzygium guineense*, antioxydant, anti-inflammatoire, toxicité.

SERMENT DE GALIEN

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

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de sa dignité humaine.
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
- Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.