



Année Universitaire 2009-2010

Thèse N°/___/ M

TITRE :

**Propriété cicatrisante des feuilles de *Opilia
celtidifolia* (Guill. et Perr.) Endl. ex Walp.
(Opiliaceae)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le /_30_/_01_/2010
à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
de l'Université de Bamako

Par Mlle Korotimi Dada Amadou KARABINTA

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

Jury:

Président : Pr. Moussa Harama

Membres : Pr. Elimane Mariko

Pr. Ababacar I. Maiga

Co-Directrice de thèse : Dr. Adiaratou Togola

Directeur de thèse : Pr. Drissa Diallo

A ALLAH

Je rends grâce à Allah le Créateur, le Tout Puissant, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Merci de m'avoir donnée la vie, la santé, le courage, la force et l'opportunité de présenter ce travail.

Amen

A ma Mère : Sokona BAMBA

Je ne sais quoi te dire. Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude et mon amour pour toi. Ce travail qui t'est dédié est le fruit de tes multitudes efforts et sacrifices.

Merci d'être là pour moi et mes frères. Que Dieu te donne longue vie et santé pour que tu sois fière de nous. Merci encore pour tout.

A mon Père : Amadou KARABINTA

Homme de grande simplicité, de grande bonté et d'entière disponibilité. Tout au long de notre vie tu nous as inculqué le travail bien fait. Ce travail est le fruit de tes efforts et ton soutien. Puisses-tu en être fier car c'est en pensant à toi que je l'ai réalisé. Que Dieu te donne longue vie et santé pour que tu sois fier de nous. Merci pour tout.

A mes Tantes et Oncles

Vos encouragements, vos conseils m'ont beaucoup aidé. Merci à tous de m'avoir entouré d'affection et d'avoir été toujours là pour l'union familiale. Recevez ici toute ma gratitude et mon profond respect. Que Dieu vous donne longue vie et santé.

A mes Frères et Sœurs

Cheick, Moussa, Adama, feu Aboubacar (Que ton âme repose en paix mon chéri), **Abba, Djénèbou et Gafou**

Que l'unité familiale reste pour nous tous l'objectif premier. Votre soutien et amour me donnent la volonté d'aller encore plus loin pour que vous soyez fiers de votre sœur. Merci de m'avoir aidé et encouragé. Que Dieu préserve l'union dans notre famille et vous donne longue vie et santé. Je vous adore.

A mes Cousins et Cousines

Que l'entente règne entre nous. Que Dieu préserve l'union dans notre famille et vous donne longue vie et santé.

A mes Neveux et Nièces

Que Dieu veille sur vous et vous donne longue vie et santé.

A mes Feu Grands Parents

Reposez en paix, ce travail est le vôtre.

MENTION SPECIALE

A mes meilleures amies

Fatoumata DAOU, Oumou SIDIBE : Vous avez été plus que des amies pour moi.

Toi, Fatoumata, ma jumelle de toujours et toi Oumou, ma grande sœur ; pour tout vous dire, je ne sais quoi vous dire pour exprimer toute ma reconnaissance et mon affection. Ce travail est le vôtre. Que Dieu vous donne longue vie pour atteindre vos objectifs. Soyez heureuses, je vous adore.

A Feu Mme DAOU Awa BOCOUM pour avoir été une mère pour moi. Que ton âme repose en paix

A mon Ami et Fiston Abdoulaye GUINDO : Merci d'être là

A l'Université d'Oslo

Au Professeur Drissa DIALLO

Au Professeur Rokia SANOGO : Votre grande bonté, simplicité et disponibilité font de vous une dame exemplaire. Vous avez été une mère pour nous. Malgré vos multitudes occupations, vous avez eu du temps pour nous. Ce travail est le fruit de vos conseils et efforts. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et reconnaissance. Que Dieu vous donne longue vie, santé et qu'il vous montre le chemin du succès. Merci pour tout.

Au Docteur Chiaka DIAKITE

Au Docteur Adiaratou TOGOLA : Grande sœur, oui tu es une grande sœur pour moi.

Grande sœur, ton aide, ton dynamisme, ta bonne humeur, tes conseils et tes encouragements ont contribué à la réalisation de ce travail. Retrouves ici toute ma reconnaissance. Que Dieu te donne longue vie, santé et qu'il te montre le chemin du succès. Merci encore.

A Tonton Kassim COULIBALY, Tanti Tapa, Tonton Fagnan, Tonton Adama

Pour tout ce que vous avez fait pour la réalisation de ce travail, sincères remerciements.

REMERCIEMENTS

A tous mes enseignants :

Merci pour la richesse intellectuelle que vous m'avez transmise.

Aux familles :

KARABINTA, CISSE, MARE, SYLLA, TAMBOURA, BAMBA, MAIGA, BA, SIDIBE, DAOU, DIARRA, GUINDO, DIALLO, SAMAKE etc.

A Mme Diallo "Nana"

A mes belles sœurs :

Comme le nom le dit, soyez toujours belles, oui belles pour mes frères. Soyez heureuses.

A Demba KONATE, Mousline DIARRA pour votre soutien inestimable tout au long de ce travail.

A mes camarades thésards du D.M.T. :

Mme TOURE Bintou MAIGA, Mme DIALLO Ramata NADIO, Mme CISSE Aminata DIALLO, Badiallo DIAWARA, Fousseyni TRAORE, Benjamin SANOGO et Fatoumata KANADJIGUI

Merci pour ces moments de joie, de partage, de soutien qui nous ont permis de faire face aux difficultés rencontrées. Bonne chance pour le futur

A tout le personnel du Département de Médecine Traditionnel

Merci pour l'accueil chaleureux.

A tout le personnel du L.N.S. (Laboratoire National de Santé) pour l'accueil chaleureux.

A mes cadets thésards du D.M.T.

A mes camarades promotionnaires de la F.M.P.O.S. (Promotion Pr. Rokia SANOGO, Pr. Amagana DOLO)

Cinq années passées ensemble dans l'entente et la solidarité, qui nous ont permis de relever les défis et de faire la grandeur de notre promotion.

A tous mes fistons "Dogons"

Ils se reconnaîtront, merci d'être là. Que Dieu vous bénisse.

A toutes mes connaissances de la F.M.P.O.S.

A mes promotionnaires Médecins

A tous mes amis

Du Mali, du Gabon, du Niger, de la Côte d'ivoire, du Burkina Faso, du Cameroun, du Sénégal, du Congo Brazzaville, de la Guinée Conakry, de la France et des Etats-Unis : ils se reconnaîtront, merci et j'espère que nous resterons en contact.

Au Dr TOURE, à sa femme et au personnel de l'Officine « Le Faguibine »

Au Dr KALLE Awa DEMBELE et au personnel de l'Officine "Moustapha DEMBELE"

A tout le personnel du C.S.COM de Kalaban-Coura précisément aux aînés : Waly, Cheick, Fousseyni, Tany, Germain, Mariko, Djamoutene, Abdoul, etc.

A mon homonyme Korotimi CISSE :

Merci pour ton aide et tes précieux conseils. Trouves ici ma sincère reconnaissance.

A mon cousin Mamou SYLLA : Merci pour tout

A Papou (Domo TRAORE) et Poupé (Amadiguè GUINDO) : Merci, merci et merci

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont les noms ne sont pas cités.

A notre Maître et Président du jury : Professeur Moussa HARAMA
Professeur titulaire en Chimie Organique à la F.M.P.O.S
Responsable des cours et des travaux pratiques de chimie analytique qualitative à la
F.M.P.O.S

Honorable maître, nous sommes très honorée que vous ayez accepté de présider ce travail. La chaleur humaine avec laquelle vous nous avez accueillie, votre simplicité, votre humeur joviale, vos qualités pédagogiques et scientifiques font de vous un maître hors du commun et respecté de tous.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre profond respect.

A notre Maître et juge : Professeur Elimane MARIKO
Professeur de Pharmacologie à la F.M.P.O.S,
Coordinateur de la cellule sectorielle de lutte contre le VIH et le Sida du Ministère de
la Défense et des Anciens Combattants
Pharmacien Colonel chargé de mission au Ministère de la Défense et des Anciens
Combattants

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury, ce qui nous offre l'opportunité de vous exprimer notre profonde admiration. Vos qualités humaines, ainsi que vos connaissances scientifiques font de vous un des maîtres les plus appréciés de tous.

Cher maître, recevez le témoignage de notre profonde et sincère reconnaissance.

A notre Maître et juge : Professeur Ababacar I. MAIGA
Maître de conférences en Toxicologie, Chargé de cours de Toxicologie à la
F.M.P.O.S

Cher maître, nous vous remercions d'avoir accepté de participer à l'amélioration de la qualité de ce travail. Nous avons, avec intérêt, apprécié votre rigueur et votre souci du bon travail.

Veillez recevoir ici l'expression de nos sincères remerciements.

A notre Maître et Co-directrice : Docteur Adiaratou TOGOLA
Chercheur au Département de Médecine Traditionnelle

Cher maître, nous avons apprécié en vous votre dynamisme et votre détermination dans le travail. Votre aide, votre patience, votre disponibilité, vos conseils et encouragements nous ont permis de réaliser ce travail. Recevez ici très cher maître l'expression de notre profonde reconnaissance et gratitude.

A notre Maître et Directeur de thèse : Professeur Drissa Diallo
Professeur agrégé en Pharmacognosie,
Chef du Département de la Médecine Traditionnelle de l'INRSP,
Premier assesseur de la F.M.P.O.S

Responsable de l'enseignement de la Pharmacognosie et de la Phytothérapie à la F.M.P.O.S

Cher maître vous nous avez fait un privilège et un grand honneur en nous confiant ce travail. Nous avons été marquée tout au long de ce travail non seulement par vos qualités de formateur mais aussi par votre rigueur scientifique qui ne sont plus à démontrer. Nous ne trouverons certainement pas la formule pour vous exprimer notre sincère reconnaissance pour tout.

Veillez accepter cher maître l'expression de nos sentiments d'estime, et soyez rassuré de notre profonde gratitude et de notre profond respect.

SIGLES ET ABREVIATIONS

AINS : Antiinflammatoires non stéroïdiens

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

B.A.W : Butanol. Acide Acétique. Eau

BuOH : Butanol

CCM : Chromatographie sur couche mince

CIH₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de l'hémolyse

CHCl₃ : Chloroforme

Cm : Centimètre

Cm² : Centimètre carré

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DACC : Chlorure de dialkylcarbamoyle

DCM : Dichlorométhane

D.M.T. : Département de Médecine Traditionnelle

DS : Déviation standard

EtOH : Ethanol

FeCl₃ : Trichlorure ferrique

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

G : Gramme

H : Heure

H₂O : Eau

H₂SO₄ : Acide sulfurique

H. pylori : *Helicobacter pylori*

HCl : Acide chlorhydrique

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique

IU : Indice d'Ulcère

Kg : Kilogramme

KOH : Hydroxyde de potassium

L : Litre

M : Mole

MeOH : Méthanol

µl : Microlitre

mg : Milligramme

MIU : Moyenne de l'indice d'ulcère

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mn : Minute

MTA : Médicament traditionnel amélioré

N° : Numéro

NH₄OH : Ammoniaque

nm : Nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Rf : Rapport frontal

TMS : Triméthylsilane

UV : Ultraviolet

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°1 : Quelques plantes utilisées dans le traitement des plaies.....	11
Tableau N°2 : Autres plantes utilisées dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal et ayant fait l'objet d'études scientifiques.....	16
Tableau N°3 : Quelques plantes utilisées dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal en Médecine Traditionnelle	17
Tableau N°4 : Quelques utilisations traditionnelles de <i>Opilia Celtidifolia</i>	24
Tableau N°5 : Résultats des différents dosages réalisés sur la poudre de feuilles de <i>O. celtidifolia</i>	54
Tableau N°6 : Rendements et caractéristiques des extraits des feuilles de <i>O. celtidifolia</i>	54
Tableau N°7 : Résultats des réactions de caractérisation en tube.....	55
Tableau N°8 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait EtOH avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, l'Anisaldehyde et AlCl ₃	56
Tableau N°9 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait BuOH avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, l'Anisaldehyde et AlCl ₃	57
Tableau N°10 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait MeOH avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, l'Anisaldehyde et AlCl ₃	57
Tableau N°11 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Macéré avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, l'Anisaldehyde et AlCl ₃	58
Tableau N°12 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Infusé avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, l'Anisaldehyde et AlCl ₃	59
Tableau N°13 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Décocté avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, l'Anisaldehyde et AlCl ₃	60
Tableau N°14 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Ether de pétrole avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl ₃	65
Tableau N°15 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Hexane avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl ₃	65
Tableau N°16 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait DCM avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl ₃	65
Tableau N°17 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait CHCl ₃ avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl ₃	66
Tableau N°18 : Numéro des tubes, coloration et aspect des différentes fractions de l'extrait aqueux.....	70

Tableau N°19 : Composition en monosaccharides des polysaccharides des extraits et fractions....	71
Tableau N°20 : Composition des différentes pommades testées pour l'activité cicatrisante.....	71
Tableau N°21 : Récapitulatif des pourcentages de diminution des plaies.....	75
Tableau N°22 : Activité protectrice de la muqueuse gastrique des décoctés total et épuisé des feuilles de <i>O. celtidifolia</i> contre l'ulcère provoqué par l'éthanol 90% pendant 60mn chez les rats.....	75

LISTE DES FIGURES

Figure N°1 : Classification des plaies cutanées selon la profondeur	7
Figure N°2 : Guérison d'une plaie par première et seconde intention	9
Figure N°3 : <i>Helicobacter pylori</i>	14
Figure N°4 : Photo de <i>Opilia celtidifolia</i>	23
Figure N°5 : Photo du Département de Médecine Traditionnelle.....	27
Figure N°6 : Photo de l'étuve et de la balance de précision	29
Figure N°7 : Photo du dispositif pour la décoction totale sous reflux de la poudre des feuilles de <i>O. celtidifolia</i>	33
Figure N°8 : Schéma du processus de décoction de la poudre de feuilles de <i>O. celtidifolia</i>	33
Figure N°9 : Photo du lyophilisateur.....	33
Figure N°10 : Photo du rotavapor.....	34
Figure N°11 : Photo du dispositif de l'extraction au Soxhlet.....	35
Figure N°12 : Schéma de l'extraction au Soxhlet.....	35
Figure N°13 : Schéma du processus de décoction épuisée.....	36
Figure N°14 : Photo du dispositif de la chromatographie sur colonne.....	44
Figure N°15 : Photo du collecteur de fractions.....	45
Figure N°16 : Principe du test à l'acide sulfurique et au phénol	46
Figure N°17 : Réaction de méthanolyse.....	46
Figure N° 18 : Schéma de la formation des dérivés du TMS.....	47
Figure N° 19 : Photo de la CPG.....	48
Figure N° 20 : Photo de préparation de pommade.....	49
Figure N°21 : Eléments microscopiques.....	53
Figure N°22 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par le Godin.....	61
Figure N°23 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par l'Anisaldehyde... ..	62
Figure N°24 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par AlCl ₃	63
Figure N°25 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par FeCl ₃	64
Figure N°26 : Chromatogramme des extraits organiques révélé par le Godin.....	67
Figure N°27 : Chromatogramme des extraits organiques révélé par AlCl ₃	68
Figure N°28 : Chromatogramme des extraits organiques révélé par FeCl ₃	69
Figure N°29 : Courbes de fractionnement du décocté épuisé des feuilles de <i>O. celtidifolia</i> sur Biogel, P6.....	70
Figure N°30 : Photo des plaies traitées avec la pommade A.....	72
Figure N°31 : Photo des plaies traitées avec la pommade B.....	73

Figure N°32 : Photo des plaies traitées avec la pommade C.....	73
Figure N°33 : Photo des plaies traitées avec le beurre de karité	73
Figure N°34 : Photo des plaies traitées avec l'auroéomycine 3%	74
Figure N°35 : Photo des plaies traitées avec Amustil.....	74
Figure N°36 : Photo des plaies non traitées.....	74
Figure N°37 : Photo des estomacs de rats non traités et traités.....	76

INTRODUCTION

Une plaie est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée. La perturbation de l'intégrité de la peau peut survenir dans plusieurs contextes: chirurgies, brûlures, radiations, coupures, déchirures, éraflures, abrasions, frottements, pincements et pressions. Les plaies constituent un motif de consultation extrêmement fréquent dans les services d'urgences. Ce type d'accident à priori banal peut poser des problèmes thérapeutiques complexes.

La guérison d'une plaie cutanée est un processus dynamique coordonné qui implique la multiplication cellulaire, la migration cellulaire active et la production de matrice extracellulaire (*Li et al. 2005 ; Smith et al. 1998*).

Au Mali, la majorité des plaies sont provoquées pendant les accidents de la circulation, chez les travailleurs utilisant des outils tranchants, chez les enfants, en milieu médical (plaies chirurgicales etc.) et en milieu rural (infections parasitaires) et pendant les travaux champêtres. En médecine traditionnelle, il existe le concept de plaie chronique appelé en Bambara «Kélébé» que les tradipraticiens de santé trouvent assez difficile à guérir. Ces plaies chroniques infectées sont dans la majorité des cas assez invalidantes et sont fréquentes dans les milieux ruraux là où la majorité des populations n'ont accès qu'à la médecine traditionnelle comme traitement (*Diallo et al. 2002*).

Afin de maintenir les fonctions essentielles de la peau, il est très important de la réparer lorsqu'un tel événement survient et ceci est valable pour l'ulcère gastroduodéal.

L'ulcère gastroduodéal est une affection circonscrite, destructive et progressive, qui atteint la muqueuse et la sous muqueuse de l'estomac et du duodénum. La maladie ulcéreuse gastrique et duodénale a connu une révolution dans son traitement durant les 20 dernières années; depuis la découverte d'*Helicobacter pylori* par Marshall et Warren son incidence semble être en diminution marquée ces dernières années (*Conférence de consensus helicobacter pylori, 1999*).

Plusieurs travaux ont été menés sur cette pathologie au Mali et dans d'autres pays Africains. L'ulcère gastroduodéal représente 32% de l'ensemble des endoscopies digestives hautes au Cameroun (*Nditoyap Ndam et al. 1990*); 11,29% et 79,72% au Congo respectivement pour les ulcères gastriques et duodénaux (*Ibara et al. 1993*).

Dans une étude en Côte d'Ivoire, la fréquence globale des ulcères gastroduodénaux était de 6,8% (*Kadjo et al. 1999*). Dans une étude faite à l'Hôpital Régional de Sikasso, la fréquence des ulcères gastroduodénaux était de 10,88% (*Diarra et al. 2003*). Ces études ont été effectuées essentiellement en milieu urbain.

Le traitement conventionnel d'une plaie est fonction de sa gravité, et varie d'une simple protection aseptique à l'utilisation de pansements de base occlusifs, non occlusifs, mixtes, spéciaux, bio-

actifs ou l'utilisation d'autres produits antibiotiques ou cicatrisants. Quand à l'ulcère gastroduodéal, son traitement a subi une révolution depuis la découverte de l'implication de *H. pylori* dans cette pathologie. Il associe un inhibiteur de la pompe à proton et une bithérapie antibiotique-antiparasitaire. Ces traitements assez efficaces sont dispensés de nos jours dans la plupart des centres de santé conventionnelle, mais leurs coûts élevés font qu'ils ne sont pas accessibles à une très forte majorité de la population vivant en milieu rural. Ces patients utilisent les ressources de la médecine traditionnelle comme alternative de traitement.

La médecine traditionnelle reste une option à grande potentialité thérapeutique des plaies et ulcères de façon générale. De nombreuses plantes et recettes traditionnelles possèdent une propriété curative sur les plaies et ulcères. Au Mali une étude réalisée par Diallo et al (2002) a identifié cent vingt trois (123) espèces appartenant à cinquante (50) familles botaniques, utilisées traditionnellement dans le traitement des plaies. De nombreux travaux ont démontré que les plantes utilisées traditionnellement comme cicatrisant possèdent des propriétés d'activation du système immunitaire; cette activation serait le mécanisme de guérison des plaies. Les études ont aussi montré que les polysaccharides sont les substances responsables de l'activation du système immunitaire donc de la guérison des plaies et de l'ulcère gastroduodénale (Yamada & Kiyohara, 1999 ; Nergård 2005). (Diallo et al. 2000) ont testé l'activité sur le complément d'extraits polysaccharidiques d'*Entada africana*, une espèce végétale très utilisée dans le traitement des plaies au Mali.

Le Gastrosédal est un phytomédicament élaboré par le Département de Médecine Traditionnelle à partir des tubercules de *Vernonia kotshyana* et utilisé dans le traitement des ulcères; cette plante était citée par les tradipraticiens de santé comme possédant des propriétés cicatrisantes. Les études scientifiques ont démontré cette propriété mais aussi l'activité immunomodulatrice des polysaccharides contenu dans le Gastrosédal (Nergård 2005).

Les feuilles de *Opilia celtidifolia* sont largement citées en médecine traditionnelle comme possédant des propriétés cicatrisantes des plaies (Diallo et al. 2002 ; Inngjerdingen et al. 2004 ; Togola et al. 2005). Elles contiennent aussi des polysaccharides ayant une propriété d'activation de plusieurs composantes du système immunitaire notamment le complément, les macrophages, les lymphocytes B et T (Togola et al. 2007). Etant donné que la présence de ces polysaccharides fortement immunomodulateurs et la guérison des plaies semblent être corrélées, il serait donc nécessaire de vérifier l'activité cicatrisante d'extrait de cette plante.

L'hypothèse de recherche que soutient ce travail est donc ainsi formulée: les extraits polysaccharidiques des feuilles de *Opilia celtidifolia* possèdent-ils une activité cicatrisante sur les plaies externe et interne ?

MOTIVATIONS

L'usage de remèdes à base de feuilles de *Opilia celtidifolia* dans le traitement des plaies en milieu traditionnel est courant. Cette thérapie n'a pas encore été soumise aux critères d'évaluation scientifique comme cela a été le cas pour d'autres plantes. Ce présent travail est donc motivé par la curiosité scientifique de vérifier l'utilisation traditionnelle des feuilles de la plante comme cicatrisant sur les plaies externes et internes vu la présence de polysaccharides à activité immunomodulatrice qui est une indication de propriétés cicatrisantes; ceci dans le but d'obtenir un médicament traditionnel amélioré (MTA) efficace comme alternative à la thérapie conventionnelle des plaies et ulcères.

OBJECTIFS

Objectif général :

Etudier la propriété cicatrisante des feuilles de *Opilia celtidifolia*.

Objectifs spécifiques :

- Identifier les caractéristiques botaniques et les groupes chimiques présents dans les feuilles de *O.celtidifolia* ;
- Déterminer l'activité cicatrisante de pommades à base d'extraits aqueux et des fractions polysaccharidiques des feuilles de *Opilia celtidifolia in vivo* ;
- Déterminer l'activité protectrice de la muqueuse gastrique avec les extraits total et épuisé des feuilles de *Opilia celtidifolia in vivo*.

CHAPITRE I : TRAVAUX ANTERIEURS

I. La peau

La peau est un organe complexe recouvrant le corps en entier. Son poids totalise environ 15 % du poids total du corps d'un adulte, ce qui lui vaut le titre du plus grand et du plus important (de par sa surface) organe du corps humain. Elle assure plusieurs fonctions nécessaires à la survie de l'organisme comme la protection contre les agressions physiques, chimiques et biologiques extérieures (Kanitakis 2002; Wysocki 1999). Elle a aussi un rôle dans la régulation thermique, l'excrétion, l'immunité, la synthèse de la vitamine D et elle constitue un excellent capteur d'informations extérieures grâce aux milliers de terminaisons nerveuses qu'elle contient. De plus, les nombreux vaisseaux sanguins qui traversent le derme transportent de 8 à 10 % du sang en circulation dans le corps, ce qui fait de la peau un important réservoir sanguin (Tortora et al. 1994).

La peau normale humaine est constituée de trois couches principales dont les cellules interagissent ensemble afin d'assurer ses différentes fonctions. La partie superficielle, l'épiderme, est mince et composée d'un épithélium pavimenteux stratifié et kératinisé. Elle est attachée à une couche interne plus épaisse, formée de tissu conjonctif, le derme. La dernière couche, l'hypoderme, est la couche sous-cutanée, composée de tissus conjonctifs auréolaires et adipeux. Les fibres du derme s'y rattachent et fixent ainsi la peau puisque l'hypoderme est lui-même fermement attaché aux tissus et organes sous-jacents (Gartner et al. 1992; Tortora et al. 1994).

1. Epiderme

L'épiderme est la couche en contact direct avec l'environnement extérieur, elle protège l'organisme contre celui-ci. Elle empêche les agents pathogènes d'envahir l'organisme et maintient l'eau et les nutriments en son sein. Elle a une épaisseur moyenne de 100 μm , mais celle-ci peut varier considérablement selon la région du corps. Par exemple, l'épiderme des paupières n'a que 50 μm d'épaisseur tandis que l'épiderme de la plante des pieds peut avoisiner le millimètre (Kanitakis 2002). Les cellules qui composent l'épiderme forment un épithélium pavimenteux stratifié et sont à 95 % des kératinocytes. Ils produisent de la kératine, qui imperméabilise et protège la peau et les tissus sous-jacents (Gartner et al. 1992; Tortora et al. 1994). L'épiderme est aussi composé de mélanocytes, de cellules de Langerhans et de cellules de Merkel. Les mélanocytes donnent la pigmentation à la peau en produisant de la mélanine synthétisée dans leurs organites spécialisés, les mélanosomes. Les cellules de Langerhans jouent un rôle important dans l'immunité. Elles sont des cellules lymphatiques dérivant de la moelle osseuse qui modifieraient les antigènes et les

transporteraient aux ganglions lymphatiques. Les cellules de Merkel se trouvent aussi dans la couche basale. Elles sont associées à des terminaisons nerveuses afférentes et agissent comme mécanorécepteurs (*Gartner et al. 1992; Kanitakis 1998; Kanitakis 2002; Wysocki 1999*). Ces cellules sont organisées en plusieurs couches ayant chacune un rôle dans le maintien des fonctions de la peau.

2. Derme

Le derme est la couche qui donne la souplesse et la résistance à la peau. Il est composé principalement de tissu conjonctif qui le rend compressible et élastique. Il constitue un support pour les différentes annexes cutanées que sont les vaisseaux sanguins et lymphatiques, les poils, les terminaisons nerveuses et les glandes sébacées et sudoripares. Ces annexes sont en fait entourées de fibres majoritairement constituées de collagènes de types I et III, arrangées en filet pour assurer souplesse et solidité. L'épaisseur du derme varie considérablement selon la localisation anatomique. Par exemple, il est beaucoup plus épais dans la plante des pieds que dans les paupières. En moyenne, il a une épaisseur de deux millimètres, mais peut atteindre quatre millimètres dans certaines parties du corps (*Wysocki 1999*). Le derme peut être divisé en deux parties distinctes : le derme papillaire (superficiel) et le derme réticulaire (profond).

3. Hypoderme

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. Il est constitué de tissus adipeux qui ont pour fonction d'emmagasiner l'énergie sous forme de graisse. En fait, environ la moitié de tout le gras emmagasiné dans le corps humain est retrouvée dans cette couche. L'hypoderme joue aussi un rôle de thermorégulation et de protection contre les agressions mécaniques. Les cellules qui peuplent l'hypoderme s'appellent les adipocytes, ce sont des cellules rondes remplies d'acides gras et de triglycérides (*Kanitakis 2002*). Cette couche contient aussi des fibroblastes et des macrophages, en plus de vaisseaux sanguins et des terminaisons nerveuses. Ces dernières sont aussi appelées corpuscules de Pacini ou corpuscules lamellaires et sont sensibles à la pression (*Wysocki 1999*).

II. Physiopathologie des plaies

1. Définition

Une plaie normale est définie comme une interruption dans la continuité d'un tissu du corps, une rupture de la barrière cutanée. Outre la lésion d'organes sous-jacents qui peut se produire lors de l'accident, la plaie peut entraîner la pénétration de germes pathogènes dans un organisme et provoquer une infection. Le principal risque pathogène est le tétanos.

2. Causes des plaies

Une perturbation de l'intégrité de la peau peut survenir dans plusieurs contextes. La peau peut subir des dommages lors de chirurgies, de brûlures, de radiations, de coupures, de déchirures, d'éraflures, d'abrasions, de frottements, de pincements et de pressions (*Fortin 2005*).

3. Classification des plaies

L'ampleur des dommages infligés à la peau à la suite d'une blessure dépend de la profondeur de celle-ci, qui est classifiée en trois degrés (plaie du premier, second et troisième degré), de son étendue (la superficie endommagée), et de la nature de l'agression, (exemple: traumatisme, chaleur, froid, produits chimiques). Ces trois paramètres influencent le choix du traitement puisque le déroulement de la guérison en est affecté.

3.1 Profondeur de la plaie

3.1.1 Premier degré

Les plaies du premier degré (plaies partielles) (*Lindsay 1996 ; Paletz et al. 1996*) ne touchent que l'épiderme (Figure 1). Elles proviennent généralement d'une légère brûlure, d'un coup de soleil ou d'une légère abrasion et demeurent douloureuses pendant quelques jours. Les kératinocytes morts de l'épiderme desquament et seront remplacés grâce à la prolifération des cellules basales sans qu'il y ait formation d'une cicatrice.

3.1.2 Deuxième degré

Les plaies du second degré (Lindsay 1996 ; Paletz et al. 1996) sont plus profondes et très douloureuses puisqu'elles endommagent les terminaisons nerveuses du derme. Une brûlure plus importante, l'abrasion de la peau ou une coupure provoquent généralement de telles plaies.

L'épiderme, la membrane basale et une portion variable du derme sont détruites (figure 1). La réépithélialisation s'effectuera à partir d'une portion saine du derme et des annexes cutanées. La réparation tissulaire sera plus laborieuse et souvent une cicatrice permanente subsistera surtout dans le cas de plaies profondes.

3.1.3 Troisième degré

Les plaies du troisième degré se caractérisent par la destruction complète de l'épiderme et du derme (figure 1). Une brûlure importante, une coupure ou une abrasion profonde détruisent les terminaisons nerveuses et rendent ces plaies indolores. Compte tenu de la destruction totale des annexes cutanées et de l'épiderme, la réépithélialisation doit se faire à partir des marges de la plaie plutôt qu'en foyers multiples à partir des follicules pileux comme c'est le cas dans les plaies du deuxième degré.

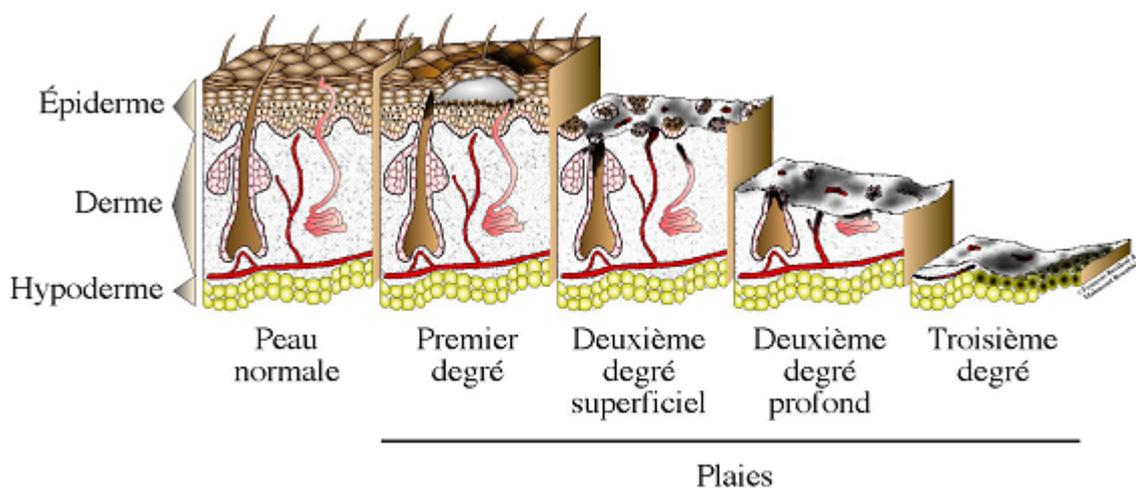


Figure n°1: Classification des plaies cutanées selon la profondeur

3.2 Étendue de la plaie

L'étendue d'une plaie constitue un paramètre majeur lors du traitement d'un blessé. Ainsi, les procédures thérapeutiques de même que la prévention des infections différeront s'il s'agit d'une blessure locale ou d'une lésion qui affecte une proportion importante de la surface corporelle.

3.3 Nature de la plaie

La nature de l'agression produit une plaie dont les caractéristiques influencent sa présentation, sa guérison naturelle et thérapeutique. A la suite d'une brûlure, la réépithélialisation débute plus tardivement de sorte que la plaie demeure ouverte plus longtemps (*winter 1972*). Ainsi, seront traitées différemment : une brûlure chaude, froide ou chimique, une incision, une éraflure.

4. Processus de guérison des plaies

La guérison des plaies dépend de leur présentation, de leur propreté, du temps écoulé depuis la blessure, du site anatomique, etc. La guérison par première intention vise à rapprocher les marges de la plaie à l'aide d'une suture afin de faciliter le processus de réparation, alors que la cicatrisation par seconde intention laisse la plaie ouverte (figure n°2) (*Calvin 1998 ; Robbins et al. 1994 ; Cohen et al. 1994*). Les processus mis en branle au cours de ces deux modes de guérison sont presque identiques, c'est à dire inflammation, suivie de la formation du tissu de granulation et de la réépithélialisation, puis de la phase de remodelage (*Stevens et Lowe. 1995*).

4.1 Phase inflammatoire

L'inflammation est une réaction vasculaire et cellulaire qui permet d'éliminer les substances étrangères qui pourraient infecter la plaie. Pendant cette étape, il y a formation d'un caillot de sang qui réunit lâchement les bords de la plaie. Ce caillot est formé lorsque des vaisseaux sanguins sont endommagés. Des plaquettes entrent alors en contact avec le collagène subendothélial, ce qui déclenche la cascade de coagulation (*Witte et al. 1997*). Ces mêmes plaquettes activées relâchent des médiateurs biochimiques qui causent une vasoconstriction afin de réduire la perte sanguine. Le caillot servira de matrice sur laquelle les cellules pourront migrer durant les phases subséquentes (*Martin 1997; Witte et al. 1997*).

4.2 Phase proliférante (prolifération, granulation et contraction)

La phase de granulation débute à peu près quatre jours après la blessure initiale et dure normalement jusqu'au jour 21 pour les plaies aiguës et selon la taille de la plaie. En pratique clinique on la distingue par un tissu rouge et rugueux dans le lit de la plaie. Ceci implique le remplacement des tissus dermiques et parfois des tissus sous-cutanés dans les plaies plus profondes en plus d'une contraction de la plaie.

4.3 Phase de remodelage

Le remodelage des tissus cicatriciels peut durer jusqu'à un an et parfois plus. Au début de cette phase, l'épiderme a retrouvé son épaisseur normale et la croûte formée à partir du caillot sanguin tombe. Les fibres de collagène commencent à être mieux organisées ; initialement fines et désordonnées, elles deviennent plus épaisses et alignées avec les autres fibres des marges de la plaie (Hunt et al. 2000; Smith et al. 1998).

Malgré toutes les modifications et le remodelage que subit le derme durant cette phase, la peau ne retrouvera jamais ni sa fonction ni sa force ou résistance originale (Tortora et al. 1994). En effet, la force de tension de la peau cicatrisée ne dépassera pas 80 % de sa force antérieure (Clark 1985). De la même façon, l'élasticité de la cicatrice sera moindre qu'avant la blessure (Doillon et al. 1985).

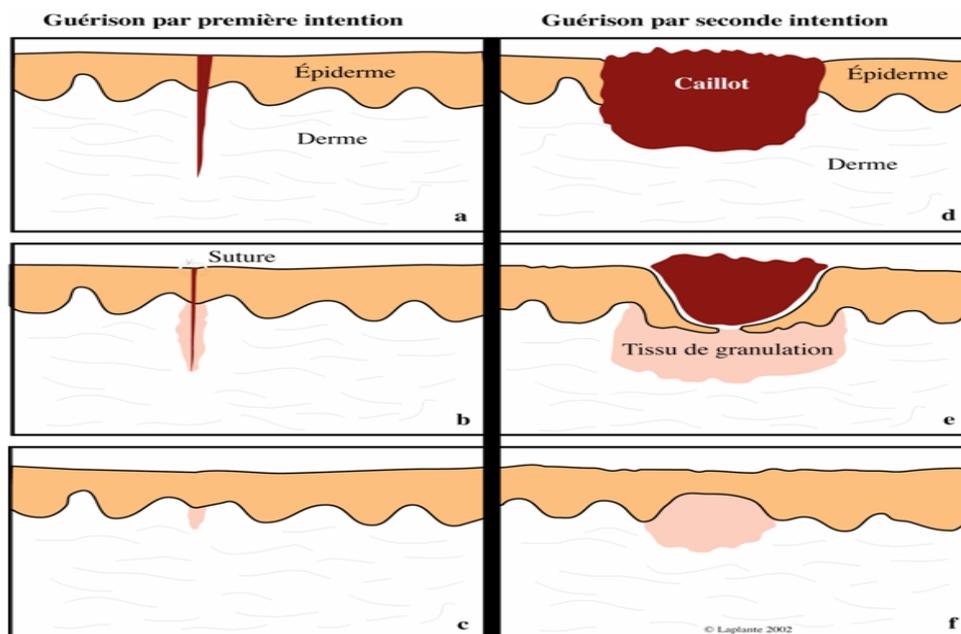


Figure n°2 : Guérison d'une plaie par première et seconde intention

5. Traitement des plaies

5.1 Traitement avec les pansements (Bornand 2005)

Le but d'un pansement moderne est de maintenir l'exsudat in situ, créer un milieu humide et une température stable proche de 37 degrés.

5.1.1 Les pansements de base occlusifs

Ce sont: les films, les hydrocolloïdes, les mousses/hydrocellulaires utilisés dans le traitement des plaies non infectées.

5.1.2 Les pansements de base non occlusifs

Ce sont : Alginates, Hydrofibres, Hydrogels, utilisés dans le traitement des plaies infectées ou non, surtout comme pansement primaire (remplissage ou recouvrement) sur les plaies exsudatives pour les deux premiers et sur les plaies sèches pour le dernier.

5.1.3 Pansements mixtes

Ils sont utiles surtout en ambulatoire (plus pratique, mais moins modulable).

5.1.4 Les pansements spéciaux

Ce sont :

- **Tulles/Interfaces** : utilisés sur tous les types de plaies (surtout brûlures, abrasion, greffe de peau).
- **Pansements au charbon** : utilisés sur les plaies infectées et/ou malodorantes.
- **Pansements antiseptiques** : tulles imprégnés, pansements à l'argent
- **Pansements bio-actifs** : utilisés dans le traitement des plaies chroniques non évolutives, atones.

5.1.5 Critères de choix d'un pansement

Le choix dépend de l'étiologie et nature de la plaie, du stade de guérison, du degré d'exsudation, de la profondeur, la localisation et la taille et de l'état de la peau périphérique.

5.2 Traitement avec d'autres produits

5.2.1 Dermasilk^R cream

Un remède efficace aux plaies superficielles

C'est un type de miel aux propriétés particulièrement cicatrisantes et anti-inflammatoires. Ce miel bioactif est utilisé dans des produits de cicatrisation des plaies, de traitement de l'eczéma et contre d'autres affections cutanées et vaginales (Creemers et al. 2005, Creemers et Bosma. 2006, Ejik et Groenhart. 2006).

5.2.2 Un pansement non médicamenteux

L'utilisation d'un pansement captant les bactéries par l'intermédiaire d'un revêtement hydrophobe constitué d'un dérivé d'acide gras (le chlorure de dialkylcarbamoyle, DACC) est déjà bien établi (Friman 1987 ; Wadstrom et al. 1985).

5.3 Traitement avec les plantes

Dans le traitement des plaies avec les plantes, les tradipraticiens de santé utilisent principalement les plantes sous forme de poudre. Cependant les décoctions, les latex, et les pommades sont également rencontrés. Les feuilles de certaines espèces sont utilisées comme pansement (Coulibaly 2001). Quelques unes de ces plantes utilisées dans le traitement des plaies figurent dans le tableau n°1.

Tableau n°1 : Quelques plantes utilisées dans le traitement des plaies (Coulibaly 2001 ; Diarra 1991 ; Samaké 1999).

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Acacia nilotica</i> (L).Willd	Mimosaceae	Ecorces ; fruits ; feuilles
<i>Agreacum moleneyi</i> Finet	Orchidaceae	Plante entière ; fruit
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae	Gomme
<i>Andropogon pinguipes</i> Stapf	Poaceae	Feuilles
<i>Anogeissus leiocarpus</i> DC. Guill et Perr	Combretaceae	Feuilles ; racines
<i>Azadirachta indica</i> A Juss	Meliaceae	Feuilles ; écorces ; graines
<i>Boscia senegalensis</i> (Pers.) Lam. Ex Poir.	Capparidaceae	Feuilles
<i>Butyrospermum parkii</i> G.Don	Sapotaceae	Rameaux
<i>Calotropis procera</i> (Ait) Ait.F	Asclepidaceae	Fruits ; racines
<i>Cassia nigricans</i> Vohl	Ceasalpiniaceae	Plante entière
<i>Cassia sieberiana</i> DC	Ceasalpiniaceae	Feuilles ; racines ; écorces
<i>Cissus arabioides</i> Welw. Ex Bock	Vitaceae	Ecorces de tronc
<i>Combretum glutinosum</i> Perr	Combretaceae	Feuilles ; écorces
<i>Combretum micranthum</i> G.Don	Combretaceae	Ecorces de racines ; fruits
<i>Cordia myxa</i> Clake	Boraginaceae	Feuilles
<i>Crossopteryx febrifuga</i> Benth	Rubiaceae	Feuilles
<i>Daniella oliveri</i> Hutch Et Dalz	Ceasalpiniaceae	Racines ; écorces
<i>Entada africana</i> Guill.Et Perr	Mimosaceae	Fibres
<i>Euphorbia balsamifera</i> Ait	Euphorbiaceae	Rameaux
<i>Euphorbia hirta</i> L.	Euphorbiaceae	Plante entière
<i>Guiera senegalensis</i> G.mel	Combretaceae	Feuilles ; racines
<i>Khaya senegaliensis</i> Juss	Meliaceae	Ecorces
<i>Landolphia heudelatii</i> A.DC	Apocynaceae	Feuilles ; racines
<i>Lannea acida</i> A.Rich	Anacardiaceae	Feuilles ; racines
<i>Lannea microcarpa</i> Engl. et K.Kraus	Anacardiaceae	Feuilles

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées
<i>Nelsonia canescens</i> Lam. Spreng	Acanthaceae	Partie entière
<i>Parkia biglobosa</i> Benth	Mimosaceae	Feuilles ; écorces
<i>Phoenix reclinata</i> Jacq	Arecaceae	Feuilles
<i>Piliostigma reticulatum</i> Hochst DC	Cesalpiniaceae	Feuilles ; écorces
<i>Portulaca aleraceae</i> L.	Portulacaceae	Feuilles, tiges
<i>Saba senegalensis</i> Pichon	Apocynaceae	Racines
<i>Sterculia setiga</i> Del	Sterculiaceae	Fruits
<i>Terminalia macroptera</i> Guill et Perr	Combretaceae	Ecorces ; racines
<i>Xylopiya aethiopica</i>	Annonaceae	Ecorces de tige

6. Méthodes d'études expérimentales de l'activité cicatrisante

6.1 Les essais *in vitro*:

Ces essais sont particulièrement importants pour examiner l'effet d'un agent cicatrisant sur un type particulier de cellule ou tissu. Ils sont généralement peu coûteux et donnent assez d'information sur les différentes propriétés des substances à étudier en peu de temps.

Le test de contraction des plaies et de prolifération des cellules de la peau peut être réalisé sur une couche de cellule en culture sur une surface plastique. Cette couche peut être interrompue comme la peau (induction de plaie) et les cellules vont migrer vers la partie blessée presque comme un tissu de guérison chez un animal (*Davis et al. 2004 ; Calderon et al. 1996*). Des tests ont été réalisés sur le collagène et le fibrinogène avec succès (*Grinnell et al. 1994 ; Eckes et al. 1995*). La culture des organes tels que la peau peut aussi être utilisée pour réaliser des tests de cicatrisation *in vitro*. Toutefois, ces expériences ne pouvant reproduire exactement les conditions dans l'organisme, sont utilisées pour avoir une indication du site d'action d'un produit à tester.

6.2 Les essais *in vivo* :

Les animaux de laboratoire (généralement les rongeurs) sont largement utilisés de façon expérimentale dans les tests de guérison des plaies bien que physiologiquement ces animaux ont un processus de guérison plus accéléré que chez les humains. Les avantages de leur utilisation résident dans le fait qu'il peuvent être modifiés génétiquement pour reproduire certaines pathologies comme le diabète, l'immunodéficience et l'obésité tel que chez l'homme (*Davidson et al. 1998*). Contrairement aux rongeurs, la peau du porc est le plus similaire de celle des humains du point de vue de la structure de la peau, du ratio épaisseur épiderme/derme, des vaisseaux sanguins, et des follicules pileux. De ce fait, des modèles de test sur les porcs sont aussi utilisés.

Plusieurs tests sont développés chez les animaux tels que « la chambre de l'oreille du rat » ou « la Chambre d'Algire » qui consiste à placer une fenêtre transparente en plastique sur le tissu sous-

cutanée dorsal du rat pour visualiser la vascularisation et de mesurer l'angiogenèse pendant la guérison (*Arfors et al. 1970 ; Lebel et al. 1991*). De même que les modèles de plaies dans les différentes couches de la peau sont aussi provoqués pour évaluer la régénération de l'épiderme et la production de la matrice. Les plaies excisionnelles sont provoquées sur le dos des animaux ; la guérison de celles-ci passe par la ré épithélialisation, la reconstitution du derme et la contraction de la plaie. Ce qui permet d'étudier toutes les phases de la guérison.

III. L'ulcère gastroduodéal

« Ulcère gastroduodéal » est une expression qui englobe, en raison de la similitude de leurs manifestations, l'ulcère gastrique, qui se forme dans l'estomac, et l'ulcère duodéal, qui se forme dans le duodénum. L'ulcère est en quelque sorte une plaie, qui peut être superficielle ou profonde. Il s'accompagne généralement d'inflammation et de douleurs à l'abdomen. Les douleurs ulcéreuses proviennent du contact entre l'acide sécrété par l'estomac et la plaie, qu'on peut comparer à l'application d'un tampon d'alcool sur une éraflure (www.passeportsante.net).

1. causes



Helicobacter pylori

Figure n°3 : *Helicobacter pylori*

La bactérie *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) survit à l'acidité donc causerait approximativement 60 à 80 % des ulcères gastriques et 80 à 85 % des ulcères duodénaux (www.passeportsante.net).

Cette bactérie envahit la couche de mucus qui protège normalement l'estomac et l'intestin grêle des acides digestifs, et perturberait ce mécanisme protecteur chez certaines personnes.

D'autres causes citées pour cette maladie sont une production excessive d'acide par l'estomac, la prise fréquente de médicaments qui endommagent la paroi du tube digestif, un choc, une brûlure grave, des blessures importantes ou encore le stress lié à une maladie grave.

2. Traitements médicaux

Habituellement, le traitement médical de l'ulcère ne diffère pas, que celui-ci soit gastrique ou duodéal. L'objectif est non seulement de diminuer l'acidité gastrique, ce qui permet aux ulcères de guérir tout en éliminant les douleurs, mais aussi d'éradiquer la bactérie *H. pylori*, afin d'éviter que les ulcères ne réapparaissent.

Le traitement antiulcéreux idéal devrait atteindre 4 objectifs (*Safar et al. 1985*) : soulager la douleur, accélérer la cicatrisation, prévenir les complications et diminuer la fréquence de récives.

3. Schémas thérapeutiques

En pratique aujourd'hui, il existe un consensus sur le traitement de la maladie ulcéreuse, qui repose sur une trithérapie capable d'éradiquer dans 90% des cas *Helicobacter pylori*. En effet celle-ci associe un inhibiteur de la pompe à proton (IPP) et une bithérapie antibiotique-antiparasitaire.

Le traitement des ulcères gastroduodénaux compliqués se fait en deux étapes : médical et chirurgical (*Safar et al. 1985*)

4. Traitement traditionnel

4.1 Le Gastrosédal (*Vernonia kotschyana*)

Le gastrosédal est un médicament traditionnel amélioré (MTA) à base de poudre des racines de *Vernonia kotschyana* utilisé dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal. Des études expérimentales faites sur les animaux ont montré que l'extrait aqueux des racines à la dose de 500 et 1000 mg/kg protégeait la muqueuse gastrique des ulcères induits par l'éthanol (préventif et curatif), l'indométacine, le stress, avec une efficacité comparable à celle de la Ranitidine et du Sucralfate (*Germano' et al. 1996*). Aujourd'hui, le Gastrosédal, est inscrit sur la liste des médicaments essentiels du Formulaire Thérapeutique National du Mali pour le traitement des gastrites de l'ulcère gastroduodéal, prescrit, disponible dans les centres de santé communautaires et vendu dans les pharmacies.

4.2 Curcuma (*Curcuma longa*)

Le curcuma a été utilisé de façon traditionnelle pour traiter les ulcères gastroduodénaux. Des études en laboratoire (in vitro) et sur des animaux (in vivo) indiquent qu'il aurait des effets protecteurs sur la muqueuse gastrique. (*Kositchaiwat et al. 1993 ; Van Dau et al. 1998 ; Prucksunand et al. 2001*).

4.3 Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*)

Des études cliniques ont démontré que l'extrait pouvait prévenir la récurrence des ulcères gastriques. L'une d'elles a conclu qu'un extrait de réglisse était aussi efficace que la cimétidine dans la mesure où les patients en prenaient en permanence (*Morgan et al. 1985*).

4.4 Nopal (*Opuntia ficus indica*)

Les fleurs de cette plante étaient traditionnellement utilisées en Amérique latine pour soigner divers troubles gastro-intestinaux, incluant les ulcères. Les résultats d'essais menés sur des animaux ont démontré que le nopal avait une action antiulcéreuse (*Galati et al. 2002*) et anti-inflammatoire (*Park et al. 1998*).

4.5 Souci (*Calendula officinalis*)

Le souci est une plante médicinale largement utilisée dans le monde, en particulier pour les soins de la peau. Un essai clinique a évalué son efficacité sur l'ulcère duodéal et la gastroduodénite (*Chakurski et al. 1981*).

4.6 Terenifou (*Pteleopsis suberosa*)

Une étude expérimentale a été réalisée en 1989 sur 23 patients. Au bout de 30 jours de traitement ils ont enregistré 56,52% de guérison et au bout de 60 jours 69,57% de cas de guérison (Mariko 1989).

Cependant il existe d'autres plantes ayant fait l'objet d'études scientifiques, utilisées dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal (tableau n°2).

Tableau n°2: Autres plantes utilisées dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal et ayant fait l'objet d'études scientifiques

Noms scientifiques	Familles	Parties utilisées	Références
<i>Acorus calamus</i> L.	Arecaceae	Rhizomes Bourgeons floraux	Rafatullah et al. 1994
<i>Moringa lifer</i> Lam	Moringaceae		Ross 1999
<i>Nauclea latifolia</i> SME	Rubiaceae	Ecorces du tronc ou Racine	Adjanooun et al. 1973
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Lamiaceae	Partie aérienne	Aklikokou et al. 1995
<i>Parkia biglobosa</i> Benth.	Mimosaceae	Ecorces du tronc	Aklikokou et al. 1995
<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Euphorbiaceae	Fruit	Ross 1999
<i>Sterospermum kunthianum</i> Cham.	Bignoniaceae	Racines	Kerharo et Adams. 1974
<i>Tamarindus indica</i> L.	Cesalpiniaceae	Ecorces de tige	Aké et al. 1978
<i>Trichilia emetica</i> Vahl	Meliaceae	Ecorces tige et racine	Diallo 2000
<i>Vernonia colorata</i> Drake	Asteraceae	Feuilles	Kerharo et Adams. 1974

Plusieurs autres plantes sont utilisées dans le traitement des ulcères dont leur activité n'a pas fait l'objet d'études scientifiques. Quelques unes sont citées dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°3: Quelques plantes utilisées dans le traitement de l'ulcère gastroduodéal en Médecine Traditionnelle (Keita 2005)

Noms scientifiques	Familles
<i>Acacia albida</i> Del.	Mimosaceae
<i>Acacia nilotica</i> (L.) Willd.	Mimosaceae
<i>Acacia senegal</i> (L.) Willd.	Mimosaceae
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae
<i>Annona senegalensis</i> Pers.	Annonaceae
<i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) G. et Perr	Combretaceae
<i>Argemone mexicana</i> L.	Papaveraceae
<i>Burkea africana</i> Hook.	Caesalpiniaceae
<i>Bombax costatum</i> Pell. Et Vuill.	Bombacaceae
<i>Borassus oethiopus</i> Mart.	Palmea ou Arecaceae
<i>Cassia alata</i> L.	Caesalpiniaceae
<i>Citrus aurantifolia</i> Guill.	Rutaceae
<i>Combretum glutinosum</i> G. Don	Combretaceae
<i>Combretum micranthum</i> G. Don	Combretaceae
<i>Carica papaya</i> L.	Caricaceae
<i>Cassia italica</i> L.	Caesalpiniaceae
<i>Cassia sieberiana</i> DC	Caesalpiniaceae
<i>Cissus quadrangularis</i> L.	Vitaceae
<i>Cochlospermum tinctorium</i> A. Rich	Cochlospermaceae
<i>Corchorus tridens</i> L.	Tiliaceae
<i>Crossopteryx febrifuga</i> (Az.) Benth	Rubiaceae
<i>Detarium microcarpum</i> Guill. et Perr.	Fabaceae
<i>Entada africana</i> G. et Perr.	Mimosaceae
<i>Ficus platyphylla</i> Del	Moraceae
<i>Fagara zanthoxyloides</i> Lam.	Rutaceae
<i>Gardenia ternifolia</i> K. Schum.	Rubiaceae
<i>Hyptis spicigera</i> Lam.	Labiataeae
<i>Ipomaea asarifolia</i> (Derr.) R et Sch.	Convolvulaceae
<i>Lannea velutina</i> A.Rich	Anacardiaceae
<i>Leptadenia hastata</i> (Pers). Decne	Asclepiadaceae
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) O. Kze.	Rubiaceae
<i>Nauclea latifolia</i> Sm.	Rubiaceae
<i>Nelsonia canescens</i> (Lam). Spreng	Acanthaceae
<i>Nymphae lotus</i> L.	Nymphaeaceae
<i>Opilia celtidifolia</i> (G et Perr.) Endl.	Opiliaceae
<i>Parkia biglobosa</i> (Jacq.) Benth.	Mimosaceae
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir.	Papilionaceae
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst	Caesalpiniaceae
<i>Phyllanthus reticulatus</i> Poir.	Euphorbiaceae ou phyllanthaceae
<i>Prosopis africana</i> (G. et Perr.) Taub.	Mimosaceae
<i>Pseudocedrela kotschy</i> (Schui) Harms	Meliaceae
<i>Psorospermum febrifugum</i> Spach.	Hypericaceae
<i>Pteleopsis suberosa</i> Engl. Diels	Combretaceae
<i>Raphionacme brownii</i> Daronit berh.	Apocynaceae ou Periplocoideae

Noms scientifiques	Familles
<i>Spondias mombin</i> L.	Anacardiaceae
<i>Sida stipulata</i> Cav.	Malvaceae
<i>Sclerocarya birrea</i> (A. Rich.) Hochst.	Anacardiaceae ou Terebinthaceae
<i>Scoparia dulcis</i> L.	Scrophulariaceae
<i>Securinega virosa</i> L.	Euphorbiaceae
<i>Stereospermum kuntianum</i> Cham.	Bignoniaceae
<i>Tamarindus indica</i> L.	Caesalpinaceae
<i>Trichilia emetica</i> Vahl.	Meliaceae
<i>Voandzeia subterranean</i> (L.) DC.	Papilionaceae
<i>Vernonia kotschyana</i> Sch. Bip	Asteraceae
<i>Vitellaria paradoxa</i> Gaertn.	Sapotaceae
<i>Ximenia americana</i> L.	Oleaceae
<i>Xylopiya aethiopica</i> Rich.	Annonaceae
<i>Zizyphus mucronata</i> Willd.	Rhamnaceae
<i>Zizyphus mauritiana</i> Lam.	Rhamnaceae

5. Approches complémentaires

5.1 Probiotiques

Les probiotiques sont des bactéries vivantes qui exercent une influence bénéfique, entre autres, sur la flore intestinale. Il a été démontré que la consommation de probiotiques, en particulier de souche *Lactobacillus acidophilus*, permet de réduire la prolifération de *H. pylori* chez des personnes saines qui en sont infectées (Michetti et al. 1999 ; Felley et al. 2001).

5.2 Vitamine C

D'après des études en laboratoire et sur des animaux, la vitamine C inhiberait la prolifération de *H. pylori*, (Jarosz et al. 1998).

5.3 Acupuncture

Pour soulager la douleur occasionnée par les ulcères, l'acupuncture serait une thérapie intéressante. On rapporte que, chez certains patients, ce traitement permet de diminuer la production d'acide dans l'estomac (Ernst 1998).

5.4 Gestion du stress

La majorité des problèmes digestifs semblent être liés au stress. Les techniques de relaxation fournissent des outils pour se sortir de la spirale du stress et peuvent ainsi fournir une aide précieuse pour favoriser la guérison des ulcères, lorsque ceux-ci sont liés aux facteurs émotionnels (Ernst 1998).

6. Méthodes d'études expérimentales de l'activité antiulcéreuse

L'étude de l'activité antiulcéreuse gastroduodénale consiste à provoquer de manière expérimentale l'ulcère gastrique chez les animaux de laboratoire avec différents agents ulcérogènes, les AINS, l'alcool, HCl, le stress, l'histamine, ligature de pylore, etc.....

L'activité antiulcéreuse d'une substance peut être testée en l'administrant avant ou après l'agent ulcérogène et à évaluer son effet. L'évaluation de l'activité antiulcéreuse se fait par la détermination et l'appréciation d'une échelle de gravité des lésions ou de l'indice d'ulcère.

6.1 Ulcères gastroduodénaux provoqués par les substances chimiques

Les ulcères peuvent être provoqués chimiquement par :

6.1.1 L'éthanol

L'alcool est probablement responsable pour une proportion considérable de l'ulcère humain et aussi c'est un stimulant ulcérogénique expérimentale qui est convenable. Dans certains modèles d'animaux comme les souris, l'ulcère peut être provoqué par administration d'éthanol additionné d'acide chlorhydrique (HCl/EtOH).

6.1.2 Les Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

La toxicité des AINS pour la muqueuse gastroduodénale se manifeste par l'apparition d'érosions et parfois d'un ulcère, le plus souvent de localisation gastrique (*Williamson et al. 1996*).

Tous les anti-inflammatoires ont en commun la propriété d'inhiber la cyclooxygénase, enzyme qui conduit à la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. L'absence des prostaglandines est généralement considérée comme responsable de la genèse des lésions gastriques (*Mignon 1992*).

6.1.3 Autres produits chimiques

Histamine, (5-hydroxytryptamine, 5-HT) et les Corticoïdes (e.g. prednisolone)

Ils peuvent tous provoquer les ulcères gastroduodénaux à des dosages et dans des conditions appropriés. (*Williamson et al. 1996*).

6.2 Le stress

Les ulcères provoqués par le stress chez les animaux sont désagréables, mais puisque le stress reste la majeure cause des ulcères chez l'homme, il est nécessaire d'utiliser occasionnellement un modèle animal dans lequel l'ulcération est provoquée par le stress. Par l'exemple l'immobilisation et le froid sont utilisés pour provoquer le stress (*Williamson et al. 1996*).

IV. Les polysaccharides

1. Définition (Bruneton 1993)

Ils sont arbitrairement définis comme des polymères de haut poids moléculaire résultant de la condensation d'un grand nombre de molécules d'oses. Chaque ose est lié à son voisin par l'intermédiaire d'une liaison osidique formée par élimination d'une molécule d'eau entre l'hydroxyle hémiacétalique en C-1 d'un ose et un des hydroxyles quelconque de l'autre molécule osidique. On les appelle encore polyosides ou glycanes. Les polysaccharides proviennent principalement des végétaux, mais il existe aussi des sources algales, bactériennes et animales.

2. Structure (Phillips et Williams. 2000)

Les polysaccharides sont composés de longues molécules droites ou ramifiées à glucides simples. La longueur de la chaîne, le nombre et le type d'unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles, comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation.

3. Exemples de polysaccharides courants

Polysaccharides d'origine :

- Animale tel que les Glycosaminoglycanes (Chitine, Chondroïtine, Hyaluronate)
- bactérienne comme Curdlane, Gellane, Pullulane, Xanthane ;
- végétale tels que les Arabinoxylanes, Beta-glucanes, Cellulose,

Galactomannanes, Pectine, Amidon, Xyloglucanes ;

- Algale, à savoir, l'Agar, Alginates, Carraghénane, Ulvane

4. Quelques activités des polysaccharides

Les polysaccharides possèdent de nombreuses activités biologiques notamment: action sur le complément (Roitt et al. 1986 ; Yamada 1994) ; une action antitumorale (Muller et al. 1989) ; anti-inflammatoire (Tragni et al. 1988) ; antiémétique (Gonda et al. 1994) ; antiulcéreuse (Sun et al. 1992) ; anti infectieuse (Roesler et al. 1991) ; hepato-protectrice (Hase et Kadota. 1996) ; anticoagulante et anti thrombotique (Mauray. S et Fischer. A-M. 1995).

5. Quelques utilisations des polysaccharides

Utilisés depuis longtemps comme ingrédients fonctionnels pour contrôler la texture, retenir l'eau et stabiliser les émulsions, les polysaccharides gagnent en popularité comme ingrédients des aliments de santé. Ces composés utiles comportent des bienfaits pour la santé comme prébiotiques, fibres alimentaires et substances mimétiques des matières grasses (Warrand 2006 ; Cui 2005). Ce sont des ingrédients hautement fonctionnels qui entrent dans la préparation de grignotines, de boissons, de

vinaigrettes, de produits de confiserie, de produits céréaliers et de produits de viande (*Cui 2001*). Les polysaccharides (La cellulose, l'alginate et le chitosan) sont utilisés comme matrices pour la régénération osseuse (*M.A. Barbosa et al. 2005*). L'amylopectine, la cellulose et l'amylose sont utilisées comme matières premières pour synthétiser des phases stationnaires chirales pour la chromatographie liquide à haute performance (*Chassaing et Felix. 1996*). Dans l'industrie pharmaceutique, de nouveaux médicaments basés sur des polymères composés de gélatine à libération régulée sont fabriqués (*Schacht et al. 1998*)

V. Monographie : *Opilia celtidifolia* (Guill. et Perr.) Endl. ex Walp.

1. Données botaniques

1.1 Synonymes : (Kerharo et Adam. 1974).

Quelques synonymes de *O.celtidifolia* :

Opilia amentacea Roxb. ; *Groutia celtidifolia* Guill. & Perr.

1.2 Systématique : ([zipcodezoo.com/plants/O/Opilia_celtidifolia/.](http://zipcodezoo.com/plants/O/Opilia_celtidifolia/))

Règne : Végétal

Sous/règne : Eucaryotes

Embranchement : Spermaphytes

Sous/embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Santalales

Famille : Opiliaceae

Genre : *Opilia*

Espèce : *celtidifolia*

1.3 Description botanique

C'est un arbre sarmenteux avec de nombreux rameaux enchevêtrés, flexueux, glabres, buissonnant ou s'enroulant autour des arbres et atteignant 8 à 10 mètres. Les écorces sont vertes avec des lenticelles ou des stries blanches (Kerharo et Adams. 1974). Ses feuilles, persistantes, brièvement pétiolées, à limbe glabre sur ses deux faces, sont elliptiques, longues de 5 à 12 cm et larges de 2 à 5 cm (Boullard 2001). Le limbe a un sommet en coin obtus, une base en coin obtus; les rameaux sont bien verts à lenticelles ou craquelures blanches, longitudinales (Flore du Sénégal 1967). Les inflorescences, jaunâtres ou verdâtres, sont de courtes grappes très fournies. Leur succèdent des inflorescences constituées de drupes ellipsoïdales, de teinte orangée, mesurant 2 cm de longueur environ (Boullard 2001).



figure n°4 : Photo de *Opilia celtidifolia*

1.4 Distribution géographique

C'est une espèce qu'on rencontre dans les savanes boisées et les forêts sèches, dans les vallées et les ravins soudaniens peu humides. (Kerharo et Adam. 1974). Commun dans les forêts périphériques et les savanes, elle est répandue en Afrique de l'ouest du Sénégal au Nigeria et est dispersée sur toutes les parties sèches d'Afrique tropicale (Burkill 1997).

1.5 Le Cycle végétatif (Malgras 1992)

Opilia celtidifolia est toujours feuillue, fleurit de janvier à avril; ses fruits mûrissent d'avril à octobre.

1.6 Noms locaux (Malgras 1992)

Bamanan : koronge, kukiruni, korongweyin, solaminkon, waraminkon

Malinké : korongoy, nenbosi

Senoufo : kagbolobe, kamugi

Bobo : nyéso

1.7 Utilisations traditionnelles

Opilia celtidifolia est une plante bien connue par les tradipraticiens de santé pour le traitement de plusieurs maladies. Certaines de ces utilisations sont résumées dans le tableau ci-dessous

Tableau n°4: Quelques utilisations traditionnelles de *Opilia celtidifolia*

Parties utilisées	Mode de préparation	Indications/ Propriétés	Références
Racines	piler, réduire en poudre	constipation, ictère etc.	Malgras 1992
	Bouillir	diurétique, purgatives	(Malgras 1992 ; Kerharo 1974)
	en macération	vers intestinaux	Togola et al. 2005
	en décoction	douleurs abdominales	Togola et al. 2005
Les rameaux feuillés	en macération simple ou avec du sel	Vermifuge	(Kerharo et Adams 1974 ; Malgras 1992)
	en décoction	contre la trichine	Malgras 1992
	en décoction avec du beurre de karité	diarrhées	Malgras 1992
Les feuilles	en macération	oedèmes, maux des yeux	(Kerharo 1974 ; Malgras 1992)
	écrasées dans les mains	les morsures de serpent	Malgras 1992
	en décoction	lèpre, méningite, comme fortifiant...	Malgras 1992
	en poudre comme pommade, en infusion, en décoction plus écorces de tiges de <i>Khaya senegalensis</i>	dermatoses	Togola et al. 2005
	en macération dans l'eau de lavage des graines de <i>Sorghum vulgare</i>		
	fraîches ou la poudre	Blessures	
	en décoction concentrée	blessures, calculs urinaires	
	en décoction	maux de tête	
	en décoction avec les racines de <i>Ximenie americana</i>	maux de tête, maux de poitrine	
	en décoction	Avortement spontané	
	en poudre dans la bouillie	Etourdissement, maux de poitrine, infection génitale	
	en décoction	Flatulence	
	en décoction plus les feuilles de <i>Trichilia emetica</i>	paludisme	
	en macération	Apéritif	
	écrasées dans l'eau	Asthme	Togola et al. 2005
en décoction	Maigreur		
poudre de feuilles en infusion	lassitude		
en poudre avec les graines de <i>Penissetum sp.</i>	cauchemar, ulcère gastrique		
en décoction, en poudre dans la bouillie	douleurs abdominales		
poudre en infusion	Refroidissement, Paralysie enfant		
en décoction+ les fruits de <i>Tamarindus indica</i>	Jaunisse		
décoction concentrée plus fruits de <i>Tamarindus indica</i>	calculs urinaires	Togola et al. 2005	

2. Données phytochimiques et pharmacologiques

2.1 Données phytochimiques

Les travaux faits par Sangaré (2004) sur *Opilia celtidifolia* ont montré la présence des saponosides, des hétérosides cardiotoniques, des stérols et triterpènes, des coumarines, des composés réducteurs, des oses et holosides et des mucilages dans les feuilles.

Dans les écorces de tronc de *Opilia celtidifolia*, des saponosides, des tanins, des hétérosides cardiotoniques, stérols et triterpènes, des coumarines, des composés réducteurs, des oses et holosides, des mucilages et anthocyanes ont été caractérisés.

Quant aux travaux réalisés par Koudouvo (2009) sur la tige feuillée de *O. celtidifolia*, les réactions de caractérisation de l'extrait aqueux ont montré la présence :

- De saponosides très abondants
- De tanins :
 - Faiblement présents avec l'acétate de plomb à 10%
 - Moyennement présents avec le chlorure ferrique au 1/10
 - Abondamment présents avec le sulfate de cuivre
- D'alcaloïdes :
 - Faiblement présents avec Mayer
 - Moyennement présents Dragendorff et Bouchardat
- De flavonoïdes

Moyennement présents avec NaOH et FeCl_3

Toujours dans les mêmes travaux (Koudouvo 2009), les réactions de caractérisation cette fois-ci de l'extrait hydro alcoolique ont montré la présence :

- De saponosides très abondants
- De tanins faiblement présents
- D'alcaloïdes
 - Faiblement présents avec Dragendorff et Mayer
 - Moyennement présents avec Bouchardat
- De flavonoides
 - Faiblement présents avec le chlorure ferrique (FeCl_3)
 - Moyennement présents avec NaOH

Un nouveau triterpène, de structure voisine de celle du 3P-hydroxy lupane, mais avec un isopropyle en position 20 et un pont oxyméthylène en position 20-28 a été isolé de l'extrait acétylé de *Opilia celtidifolia* (Druet *et al.* 1986).

Un nouveau saponoside, la Hédéragénine 28-O- β -D glucopyranoside 3-O (-O- α -L-rhamnopyranosyl (1--3) O- β -D glucuronopyranoside) a été isolé des feuilles et des écorces de tiges de *Opilia celtidifolia* (Crespin *et al.* 1993).

2.2 Données pharmacologiques

En littérature, peu d'informations ont été trouvées sur les activités biologiques de *Opilia celtidifolia*. Shihata *et al.* (Shihata *et al.* 1977) ont isolé des saponines à partir d'extrait méthanolique et trouvé des activités antispasmodiques et antihelminthiques pour ces composés. Ces effets cités ci-dessus peuvent expliquer l'utilisation de *O. celtidifolia* dans les douleurs abdominales et contre les vers intestinaux.

L'extrait aqueux total et les fractions polysaccharidiques de feuilles de *O.celtidifolia* ont montré une forte activité de stimulation de plusieurs composantes du système immunitaire. Les extraits ont démontré une forte activité dose dépendante de fixation du complément, de stimulation des macrophages et de stimulation des lymphocytes T et B. Les polysaccharides de poids moléculaires élevés sont responsables de ces activités (Togola *et al.* 2007).

L'extrait dichlorométhane des feuilles de *O. celtidifolia* a montré une concentration inhibitrice de 50% (IC₅₀) de 4,01 μ g/ml sur *Plasmodium falsiparum* (Sangaré 2004).

CHAPITRE II : TRAVAUX PERSONNELS

Première partie : Méthodologie

I. Lieu d'étude

Notre étude a été réalisée au Département de Médecine Traditionnel (DMT). Le DMT est un département de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP). Il a été centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en matière de médecine traditionnelle depuis 1981. Le DMT est une structure composée de trois services :

- Un service « Ethnobotanique et matières premières », chargé de la conception des herbiers et droguiers, de la culture expérimentale des plantes médicinales et de la production des médicaments traditionnels améliorés (MTA) ;
- Un service des Sciences pharmaceutiques pour la recherche scientifique (phytochimie, galénique, pharmacologie, toxicologie) des plantes utilisées en médecine traditionnelle ;
- Un service des Sciences médicales pour la consultation, la dispensation des MTA.

Le personnel du DMT est composé de spécialistes en Pharmacognosie, gastroentérologie, de pharmaciens généralistes, de médecins généralistes, d'ingénieur des eaux et forêt, de techniciens de laboratoire et de préparateurs des phytomédicaments.

Le DMT utilise du matériel de technologie adaptée, fabriqué par les artisans locaux comme les appareils pour macération et pour le remplissage des flacons de sirop et du matériel importé parmi lesquels, un chromatographe en phase gazeuse, un spectrophotomètre d'absorption atomique, un chromatographe liquide haute performance, un spectrophotomètre lecteur de plaque, un lyophilisateur et du petit matériel de laboratoire.



Figure n°5 : Photo du Département de Médecine Traditionnelle

II. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la poudre de feuille de *Opilia celtidifolia*. Les feuilles ont été récoltées à Blendio dans la région de Sikasso le 26 février 2009. Celles-ci ont été identifiées par un botaniste par comparaison avec un spécimen enregistré sous le numéro 0904 au DMT. Le matériel a été séché à l'ombre sur une natte dans la salle de séchage et pulvérisé en poudre fine avec un moulin de marque OSI. Cette poudre a servi pour différentes opérations.

1. Caractères organoleptiques et macroscopiques des feuilles de *O. celtidifolia*

L'analyse macroscopique a porté sur la détermination de la couleur, l'odeur, la saveur (le goût), les dimensions et la forme des feuilles de *O. celtidifolia*.

2. Caractères microscopiques de la poudre de feuilles de *O. celtidifolia*

L'observation de la poudre a été effectuée avec un microscope ordinaire à l'objectif 10. Pour l'immersion, le réactif de Gazet du Chatelier a été utilisé.

III. Dosages

1. Dosage de l'eau

Deux méthodes ont été utilisées pour le dosage de l'eau :

1.1 Méthode gravimétrique

➤ Principe

C'est une méthode pondérale qui consiste à déterminer la perte en eau d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve ou au four réglé à la température de $103 \pm 2^\circ \text{C}$ pendant 24 h.

➤ Matériels

Balance de précision, verres de montre, étuve, spatule.

➤ Mode opératoire

Cinq verres de montre ont été tarés et nous y avons introduit des prises d'essai (PE) de 2 à 3g (pesées au mg près) de notre poudre de feuille. Ensuite ces verres ont été introduits dans l'étuve réglée à 105°C pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir de l'étuve les poudres ont été refroidies dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et ensuite pesées.

Les calculs suivants permettent d'obtenir le pourcentage en eau :

Masse prise d'essai (MPE) = masse avant étuve - tare

Masse eau = masse avant étuve - masse après étuve

D'où :

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



Figure n°6 : Photo de l'étuve et de la balance de précision

1.2 Méthode azéotropique

➤ Principe

Cette méthode, encore appelée méthode volumétrique, qui consiste à mesurer le volume d'eau entraîné par distillation à température constante avec un solvant non miscible à l'eau auquel une masse de drogue végétale est ajoutée. L'eau condensée est recueillie dans la partie inférieure du tube collecteur gradué, le volume entraîné est déterminé par une simple lecture.

➤ Matériels et solvants

Ballon de 250 mm³ en verre, Réfrigérant à reflux tube droit de 20cm de long, Tube collecteur gradué surmonté d'un tube cylindrique de condensation, Source de chaleur (chauffe-ballon), Eau distillée, Solvant non miscible à l'eau (toluène), balance de précision, spatule.

➤ Mode opératoire

Dans un ballon sec 100 ml de toluène et 1 ml d'eau distillée ont été introduits. Nous y avons laissé distiller pendant une heure (1h) sous un réfrigérant connecté à un tube collecteur gradué dans lequel l'eau condensée est récupérée. Une fois 1h atteinte, le mélange a été refroidi pendant 30 mn. Après ce temps de refroidissement le volume d'eau a été lu (volume initial noté Vi), ensuite 5g de poudre ont été ajoutés au contenu du ballon et nous avons procédé comme précédemment. Après 30 mn de

refroidissement, le nouveau volume d'eau qui correspond au volume final (Vf) a été lu. Le volume d'eau (V) contenu dans la prise d'essai a été calculé comme suit :

$$V = V_f - V_i$$

Le pourcentage d'eau s'obtient alors par cette formule :

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

1.3 Substances extractibles par l'eau (1g)

Une décoction a été faite pendant 15 mn avec la poudre de feuille (1g) dans de l'eau distillée (20 ml). Le décocté a été refroidi pendant une vingtaine de minutes et filtré, ce filtrat a été mis dans un creuset métallique préalablement taré puis évaporé à sec sur une plaque chauffante. Ensuite le creuset à froid a été pesé et la masse du résidu a été déduite.

Soit (M₁) la masse du creuset vide et (M₂) la masse du creuset avec l'extrait sec.

Le pourcentage de substances extractibles par l'eau est calculé comme suit :

$$\% \text{ substances extractibles par l'eau} = \frac{M_2 - M_1}{1} \times 100$$

2. Dosage des cendres

2.1 Cendres totales (Ct)

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre...) adhérant à la drogue végétale. Elles sont obtenues par calcination complète de la matière végétale. La teneur en cendres est obtenue par dosage pondéral des cendres blanches obtenues par calcination de la drogue végétale dans un four.

➤ Matériels

Balance de précision, Four (Controller P 320 ; Nabertherm ; 30-3000°C), Creusets en porcelaine ou en fer, Spatule métallique, Dessiccateur, Pincettes.

➤ Mode opératoire

3 prises d'essai de la drogue utilisée pour la teneur en eau par méthode gravimétrique (M₁, M₂ et M₃) ont été pesées dans 3 creusets en fer préalablement tarés. Après incinération au four à une

température d'environ 600°C pendant $6h$, et refroidissement dans un dessiccateur, les masses (M'_1 , M'_2 , M'_3) des creusets contenant les cendres ont été déterminées.

La masse des cendres totales (MCt) contenue dans le creuset et la masse de la prise d'essai (Mpe) sont données par les formules suivantes :

$$MCt = M' - T \quad \text{et} \quad Mpe = M - T$$

Avec T la tare, M la masse avant calcination et M' la masse après calcination.

D'où la formule du pourcentage des Ct (%Ct) :

$$\%Ct = \frac{MCt}{Mpe} \times 100$$

2.2 Cendres chlorhydriques (Cc)

Ce sont des cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique. Ces cendres sont le résidu obtenu en faisant bouillir les cendres totales dans de l'acide chlorhydrique (HCl) à 10%, leur détermination permet de mesurer la quantité de matières siliceuses, spécialement de la terre contenue dans la drogue.

➤ Mode opératoire

Dans un tube à essai, les cendres totales ont été introduites, sur lesquelles, $20ml$ d'HCl ont été versés et le mélange a été bouilli pendant $15 mn$ au bain marie. Après refroidissement ce dernier a été filtré sur du papier filtre ; celui-ci a été transféré dans un creuset sec déjà taré de masse M . l'ensemble est pesé (M'), incinéré et repesé (M'').

La masse des Cc (MCc) est donnée par la formule suivante :

$$MCc = M'' - M$$

Le pourcentage des Cc (%Cc) est donné par le calcul suivant :

$$\%Cc = \frac{MCc}{SMpe} \times 100$$

Avec **SMpe** la somme des masses de prise d'essai pour la détermination des cendres totales.

2.3 Cendres sulfuriques (Cs)

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'acide sulfurique.

La teneur est déterminée par dosage pondéral des sulfates non volatils obtenus par calcination de la matière végétale préalablement traitée avec de l'acide sulfurique dilué au 1/2. Les sulfates résultent de la conversion des sels organiques.

Dans un creuset en fer sec préalablement taré (T), une prise d'essai de la poudre a été introduite et l'ensemble a été pesé (M). La poudre a été ensuite humectée avec une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué au 1/2 et mélangé avec une spatule.

Le creuset a été séché à l'étuve puis mis au four à la température de 600° C pendant 6 heures. Après refroidissement le creuset a été pesé (M'). La masse des cendres sulfuriques (MCs) et la masse de la prise d'essai (Mpe) s'obtiennent comme suit :

$$MCs = M' - T; \quad Mpe = M - T$$

Le pourcentage des Cs (%Cs) est donné par le calcul suivant :

$$\%Cs = \frac{MCs}{Mpe} \times 100$$

IV. Extractions

Une décoction totale et une extraction au Soxhlet par épuisement de la poudre avec le DCM et l'éthanol à 80% ont été réalisées. Et avec cette poudre épuisée une décoction a été faite (décoction épuisée).

1. Décoction

➤ Matériels

Balance de précision, chauffe ballon, une pompe, un réfrigérant, filtres en coton, rotavapor, ballon de décoction, entonnoir, fiole, congélateur, lyophilisateur, flacons de conservations.

➤ Mode opératoire

A 270g de poudre sèche introduite dans le ballon de décoction, 2700ml d'eau distillée ont été ajoutés; le ballon a été placé dans un chauffe ballon à une température de 100°c pendant 2h. Après ce temps, le décocté a été filtré, concentré au rotavapor et lyophilisé. L'extrait sec a été ensuite pesé pour calculer le rendement et conservé dans un flacon préalablement taré.



Figure n°7 : Photo du dispositif pour la décoction sous reflux de la poudre de feuilles de *O. celtidifolia*

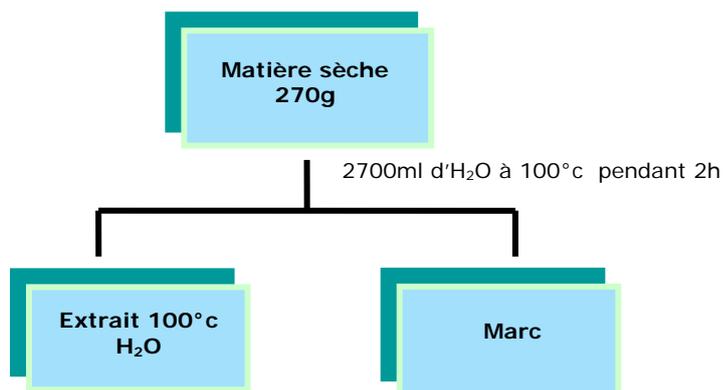


Figure n°8 : Schéma du processus de décoction de la poudre de feuilles de *O. celtidifolia*



Figure n°9 : Photo du lyophilisateur



Figure n°10 : Photo du rotavapor

2. Extraction au Soxhlet

Elle consiste à extraire par siphonnage, de la poudre végétale avec des solvants vaporisés par chauffage.

➤ Matériels et solvants

Cartouche en tissu, Soxhlet, ballon de 2l, balance de précision, éprouvette graduée, réfrigérant, spatule, chauffe ballon, rotavapor, ballons de 100ml, congélateur, lyophilisateur, Solvants organiques [dichlorométhane (DCM) et l'éthanol (EtOH)], pompe.

➤ Mode opératoire :

Une quantité (460g) de poudre à analyser est introduite dans une cartouche mise dans le Soxhlet qui lui est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction (2140 et 1840ml successivement pour le DCM et l'ETOH) et surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est entraîné par un chauffage à l'aide d'un chauffe ballon, l'extraction s'est prolongée jusqu'à épuisement totale de la drogue.

Après épuisement de la poudre les extraits ont été concentrés au rotavapor. L'extrait DCM après concentration a été laissé à l'air libre pour évaporation dans les flacons préalablement tarés et le rendement a été calculé. L'extrait éthanolique a été concentré à sec au rotavapor, repris avec de l'eau distillée, congelé et lyophilisé.

Le marc (la poudre épuisée) a été séché pendant plusieurs heures à la température du laboratoire et utilisé pour la décoction (décoction épuisée).



Figure n°11 : Photo du dispositif de l'extraction au Soxhlet

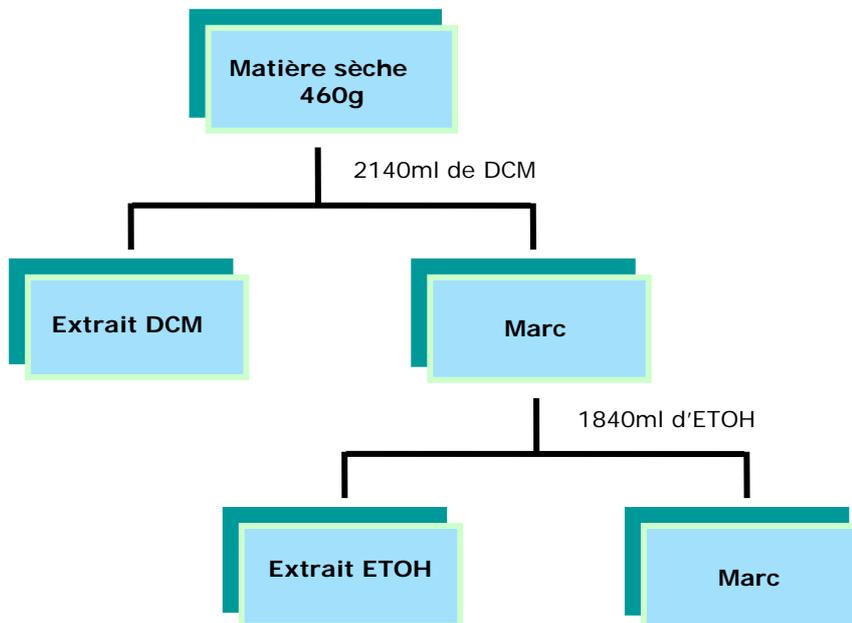


Figure n°12 : schéma de l'extraction au Soxhlet

3. Décoction de la poudre épuisée

- **Matériels** : même que pour la décoction totale

➤ Le mode opératoire

Pour cette opération 100g de marc ont été mis dans 2l d'eau distillée pour une décoction de 2h (l'extraction a été répétée 3 fois). Le décocté a été ensuite filtré, concentré et lyophilisé. Les lyophilisats obtenus ont été pesés pour calculer le rendement et conservés dans un flacon préalablement taré.

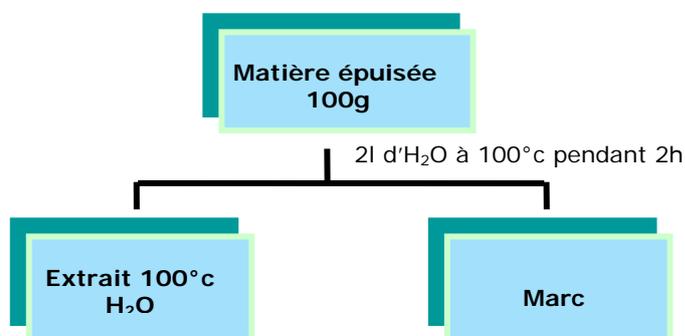


Figure n°13 : Schéma du processus de décoction épuisée

V. Etudes phytochimiques

1. Réactions de caractérisation

1.1 Alcaloïdes

Ils 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 azotées qui agissent comme des bases.

➤ Solution à analyser

L'acide sulfurique dilué au 1/10 (50 ml) a été ajouté à la poudre de feuille (10g) dans un erlenmeyer de 250 ml. L'ensemble a été laissé en macération à la température du laboratoire pendant 24 heures puis filtré. Le filtrat a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

➤ Mode opératoire

1 ml du filtrat a été introduit dans deux tubes à essai. 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium) ont été ajoutées successivement dans le premier tube et le second. La présence d'alcaloïdes a été caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

➤ Confirmation de la présence d'Alcaloïdes par une extraction

25ml de filtrat ont été introduits dans une éprouvette de 100ml, 25ml d'ammoniaque diluée au 1/2 et 25ml de Chloroforme y ont été ajoutés. L'ensemble a été agité dans une ampoule à décanter. Après décantation, la phase organique a été soutirée dans un petit bécher, cette dernière a été séchée sur

sulfate de sodium anhydre et partagée en parties égales entre deux tubes à essai. Les deux tubes ont été mis au bain marie pour évaporation à sec. Le résidu contenu dans le premier tube a été repris par 2ml de HCl dilué (HCl concentré dilué au 1/10 par l'eau distillée). La solution a été partagée entre deux tubes à essai et les mêmes révélateurs généraux des alcaloïdes ont été essayés (5 gouttes du réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes du réactif de Dragendorff dans le deuxième tube). La présence d'alcaloïdes a été caractérisée par la formation d'un précipité dans chaque tube.

1.2 Substances polyphénoliques

Solution à analyser : un infusé à 5%

5g de poudre de feuille ont été ajoutés à 100ml d'eau distillée bouillante contenue dans une tasse. Le mélange a été infusé pendant 15 mn et filtré sur du coton. Le filtrat a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée.

➤ Tanins

Ce sont des esters de l'acide gallique ou de glucose. Leurs propriétés biologiques sont liées à leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules en particulier les protéines.

Mode opératoire

Dans un tube à essai, 5ml de l'infusé ont été introduits, une solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1% (1ml) a été ajoutée. La présence de tanins a été caractérisée par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

➤ Flavonoïdes

Ce sont les pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et souvent des feuilles.

▪ Mode opératoire

A l'infusé à 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, un acide (5 ml de H₂SO₄ à 10%) a été ajouté puis une base (5 ml de NH₄OH dilué au 1/2). La présence d'anthocyanes a été indiquée par une coloration accentuée par acidification qui a virée au bleu violacé en milieu basique.

▪ Réaction à la cyanidine

Dans un tube à essai, 5 ml de l'infusé ont été introduits, puis 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95 %, l'eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; 1 ml d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium ont été ajoutés.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso amylique indiquait 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 aures, les catéchines et les isoflavones.

➤ **Leucoanthocyanes**

La réaction à la cyanidine a été effectuée sans ajouter les copeaux de magnésium et chauffée pendant *15 mn* au bain-marie. La présence de leucoanthocyanes a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brune rouge avec la même réaction.

1.3 Dérivés anthracéniques

Ils appartiennent au groupe des quinones. Ils se caractérisent par leur pouvoir oxydant élevé.

➤ **Anthracéniques libres**

- **Solution à analyser** : un extrait chloroformique

A *1g* de poudre, *10 ml* de chloroforme ont été ajoutés et chauffés prudemment pendant 3 minutes au bain marie. Le filtrage a été fait à chaud.

- **Mode opératoire**

A *1 ml* de l'extrait chloroformique obtenu, *1 ml* d'ammoniaque dilué au $\frac{1}{2}$ a été ajouté. Le mélange a été ensuite agité.

La présence d'anthraquinones libres a été caractérisée par l'apparition d'une coloration plus ou moins rouge.

➤ **Anthracéniques combinés**

- ❖ **O-Hétérosides**

- **Solution à analyser**

A une partie du résidu de la poudre épuisée par le chloroforme, *10 ml* d'eau et *1 ml* d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés. Le tube à essai a été maintenu au bain-marie bouillant pendant *15mn*. L'hydrolysate a été refroidi dans un courant d'eau et filtré. Le filtrat a été complété à *10 ml* avec de l'eau distillée.

- **Mode opératoire**

5 ml de l'hydrolysate ont été agités avec *5 ml* de chloroforme. Ensuite la phase organique a été soutirée et introduite dans un tube à essai. La phase aqueuse a été gardée.

A la phase organique, *1 ml* d'ammoniaque dilué au $\frac{1}{2}$ a été ajouté. La présence d'anthraquinones a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense.

5 ml de l'hydrolysate ont été prélevés, 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10 % ont été ajoutées. Le mélange a été chauffé pendant 5 mn au bain-marie puis refroidi sous courant d'eau. Ce dernier a été agité avec 5 ml de chloroforme, ensuite la phase chloroformique a été soutirée et introduite dans un tube à essai ; 1 ml d'ammoniaque diluée a été ajoutée et le tube a été agité.

La présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones a été indiquée par une coloration rouge, plus intense que précédemment (c'est-à-dire sans addition de FeCl₃ à 10%)

❖ C-Hétérosides

La solution à analyser ici est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des O-Hétérosides. A cette solution, de l'eau distillée (10 ml) et 1ml de FeCl₃ à 10% ont été ajoutés. Le tube à essai a été maintenu au bain-marie pendant 30 mn puis refroidi sous un courant d'eau. Le mélange a été agité avec du CHCl₃ (5 ml), puis la phase chloroformique a été soutirée et introduite dans un tube à essai. De l'ammoniaque diluée au 1/2 (1 ml) a été ajoutée.

La présence de génines de C-Hétérosides a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense.

1.4 Stérols, terpènes, coumarines et caroténoïdes

Solution à analyser

L'extrait à tester a été obtenu à partir de la poudre de feuille (1g) et de l'éther (20 ml), laissé en macération pendant 24 heures. Le mélange a été filtré et complété à 20 ml avec de l'éther.

➤ Stérols et triterpènes : réaction de Liebermann- Burchard

Dans un tube à essai 10 ml d'extrait ont été évaporés à sec, puis le résidu a été dissous dans 1 ml d'anhydride acétique et dans 1 ml de chloroforme. Le mélange a été partagé dans deux tubes à essai, l'un a servi de témoin et dans l'autre, 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré ont été introduits au fond à l'aide d'une pipette.

La présence de stérols et triterpènes a été caractérisée par la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la couche surnageante devenant verte ou violette.

➤ Caroténoïdes

Après évaporation à sec de 5 ml d'extrait dans un tube à essai, 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme ont été ajoutées. La présence de caroténoïdes a été caractérisée par l'apparition d'une coloration bleue devenant rouge par la suite.

➤ Coumarines

L'extrait éthéré (5 ml) a été évaporé à sec, puis le résidu a été repris avec de l'eau chaude (2 ml). La solution a été partagée entre deux tubes à essai.

Dans l'un des tubes, de l'ammoniaque à 25 % (0,5 ml) a été ajoutée, mélangée. La fluorescence a été observée sous UV 366 nm.

La présence de coumarines a été caractérisée par l'apparition d'une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque

1.5 Hétérosides cardiotoniques

Ils forment un groupe homogène possédant un intérêt thérapeutique réel. Ils demeurent des médicaments majeurs de l'insuffisance cardiaque.

➤ Solution à analyser

1g de poudre de feuilles a été introduit dans un tube à essai, 30ml d'éthanol à 60 % et 5ml d'acétate neutre de plomb à 10% ont été ajoutés. Le mélange a été porté au bain marie bouillant pendant 10mn et filtré sur coton après refroidissement.

➤ Mode opératoire

Le filtrat a été agité avec 10ml de chloroforme dans un tube à essai. Nous avons laissé le mélange se décanter, après décantation la phase chloroformique a été soutirée à l'aide d'une pipette, cette dernière a été partagée entre 3 tubes à essai. Les contenus des 3 tubes ont été évaporés à sec au bain marie et les résidus ont été repris avec 0,4ml d'isopropanol.

1ml de réactif de Baljet a été ajouté dans le premier tube, 1ml de réactif de Kedde dans le deuxième tube et 1ml de réactif de Raymond-Marthoud dans le troisième tube.

Après 5 gouttes de KOH à 5% dans l'alcool (0,5g dans 10ml d'alcool absolu) ont été introduites dans chaque tube.

La présence d'hétérosides cardiotoniques a été caractérisée par l'apparition des colorations suivantes :

Tube 1 Baljet: orangé

Tube 2 Kedde: rouge violacé

Tube 3 Raymond et Marthoud: violet fugace

1.6 Saponosides

Ce sont des Hétérosides caractérisés par leurs propriétés tensioactives.

➤ Solution à analyser : 100 ml d'un décocté à 1% pendant 15mn.

➤ Mode opératoire

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10 ; 1, 2, ...10 ml du décocté à 1% ont été répartis successivement. Le volume des 9 premiers tubes a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de deux agitations par seconde puis laissé au repos pendant 15 minutes. Ensuite la hauteur de la mousse a

été mesurée dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de mousse a été de 1 cm a indiqué la valeur de l'indice de mousse :

$$\text{Indice de mousse} = 1000/N$$

N = numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse atteint 1 cm

1.7 Autres caractérisations

Solution à analyser : un décocté à 10%

➤ Composés réducteurs

5ml du décocté à 10% ont été introduits dans un tube à essai et porté à évaporation au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu, 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A + 0,5 ml réactif B, mélange extemporané) a été ajouté.

La présence de composés réducteurs a été caractérisée par l'obtention d'un précipité rouge brique.

➤ Oses et holosides

5ml du décocté à 10% ont été introduits dans un tube à essai et portés à évaporation au bain-marie jusqu'à sec. Au résidu, 2 à 3 gouttes de H_2SO_4 concentré ont été ajoutées, puis après 5 minutes, 3 à 5 gouttes d'alcool saturé avec du thymol ont été ajoutées.

La présence d'oses et holosides a été caractérisée par le développement d'une coloration rouge.

➤ Mucilages

A 1 ml de décocté à 10 %, 5ml d'éthanol absolu ont été ajoutés. La présence de mucilages a été caractérisée par l'obtention d'un précipité floconneux, par mélange.

1.8 Hétérosides cyanogénétiques

A la poudre de feuille (1g), 5ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène ont été ajoutés. Après agitation, la partie supérieure du tube à essai a été nettoyée et le papier picrosodé fraîchement préparé (avec le réactif de Guignard) a été fixé à l'aide d'un bouchon.

La présence d'hétérosides cyanogénétiques a été caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé.

2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes de séparation: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances

migrent à une vitesse qui dépend de leur affinité avec la phase stationnaire et la nature de solvant de migration.

➤ **Principe**

Lorsque la plaque sur laquelle l'échantillon a été déposé est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption.

➤ **Mode opératoire**

▪ **Préparation des extraits**

La poudre de feuille a été extraite avec les solvants suivants (en raison de *1g* dans *10ml*) : éther de pétrole, hexane, dichlorométhane, chloroforme, méthanol, l'éthanol, butanol et l'eau. Pour les extraits organiques une macération à froid sous agitation pendant *1 heure* a été effectuée, les extraits ont été filtrés sur du papier filtre. Pour les extraits aqueux, en plus de la macération à froid, une infusion et une décoction ont aussi été faites. Ces extraits ont été filtrés sur du coton et le filtrat a été quantifié.

Pour les extraits aqueux, *5g* dans *50ml* ont été pris et *4ml* de filtrat pour le décocté, *33ml* pour l'infusé et *34ml* pour le macéré ont été obtenus.

▪ **Les matériels utilisés**

Plaque de silice G60F₂₅₄, une cuve de migration en verre avec couvercle étanche, séchoir électrique, crayon de papier, règle graduée, micropipettes de *10μl*, pince pour plaque, lampe UV, papiers d'aluminium

▪ **Les systèmes de solvant**

- Ligroïne- Acétate d'éthyle (2- 1) pour les extraits organiques.
- Butanol- Acide acétique- Eau (65- 15- 25) pour les extraits alcooliques et les extraits aqueux.

▪ **Dépôt des différents extraits**

L'échantillon (10 microlitres) est déposé à l'aide d'une micropipette en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas la détériorer.

Les solutions ont été déposées sous forme de point distant de $1,5\text{ cm}$ les uns des autres et situées à environ 1 cm de la partie inférieure de la plaque. Chaque dépôt a été séché à l'aide d'un séchoir.

▪ Développement de la plaque

La plaque a été introduite en position verticale dans la cuve de migration restée fermée pendant le développement. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, celle-ci est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre. Après séchage les plaques ont été regardées à l'UV 254 nm et 366 nm . Les taches observées ont été encerclées au crayon, en traits pleins pour les taches détectées à l'UV 254 nm et en traits pointillés pour les celles détectées à l'UV 366 nm .

▪ Révélation

Les plaques ont été révélées avec les réactifs suivants : FeCl_3 , AlCl_3 , le Godin et le mélange (Anisaldehyde, Acide acétique glacial, Méthanol et l'Acide sulfurique concentré), par pulvérisation. Les taches observées après révélation ont été mises entre crochet.

▪ Calcul de R_f (rapport frontal)

$$R_f = \frac{dc}{ds}$$

dc : distance parcourue par le composé (mesuré à partir du dépôt jusqu'au centre de la tache)

ds : distance parcourue par le front du solvant

Le rapport frontal des composés détectés à l'UV 254 nm , 366 nm et après révélation a été calculé et les couleurs notées.

NB : le rapport frontal est toujours inférieur ou égal à 1.

3. Chromatographie sur colonne (Biogel P6)

➤ Principe

La chromatographie sur colonne est une méthode de fractionnement des extraits en vue de déterminer leur composition. Il repose sur la séparation selon la masse moléculaire, les substances de masse élevée sont les premières à être recueillies.

➤ Matériels

Colonne en Biogel P6, pompe, collecteur de fractions contenant des tubes, tubes à essai, béchers, erlenmeyers, éprouvettes, une balance de précision, fioles, agitateur magnétique, filtre, micropipettes, gants, cuves pour le spectrophotomètre, spectrophotomètre, hotte, rotavapor, ballons de 100ml, congélateur, lyophilisateur, flacons pour conservation.

➤ Solvants

Eau distillée dégazée, phénol, acide sulfurique concentré

➤ Préparation des extraits

5g du décocté épuisée ont été dissous dans 50 ml d'eau distillée, pour une dissolution complète, le mélange a été agité sous agitateur magnétique pendant quelques minutes et ensuite filtré sous vide, la solution obtenue a été passée sur le gel à l'aide d'une pompe.

➤ Le dispositif

Le dispositif est composé d'une colonne (Pharmacia) contenant du Biogel P6-DG comme support de chromatographie. La colonne est reliée à une pompe péristaltique (Pharmacia) qui aspire les extraits et l'éluant, et à un collecteur de fractions (Pharmacia) qui, comme son nom l'indique, collecte les fractions au sortir de la colonne.



Figure n°14 : Photo du dispositif de la chromatographie sur colonne



Figure n°15 : Photo du collecteur de fractions

➤ **Elution**

Le solvant d'éluion a été de l'eau distillée dégazée à l'aide d'une pompe. Le débit était réglé à *1ml/mn*. L'éluant a été recueilli dans des tubes disposés dans le collecteur réglé à son tour à *10mn/tube*.

➤ **Test à l'acide sulfurique et au phénol**

Le Principe de ce test (figure n°16) est basé sur la transformation des molécules de polysaccharides en substances colorées qui absorbent la lumière à une longueur d'onde précise. La mesure de cette absorbance permet de déterminer le profil d'éluion de ces polymères.

La figure n° 16 montre le principe chimique de la réaction. Les molécules d'hydrates de carbones sont naturellement sous la forme pyrane (A) en présence d'acide sulfurique elles sont transformées en forme furane (B) (qui est une forme instable), celles-ci en présence de phénol forment un complexe (C) qui absorbe la lumière à 487 nm

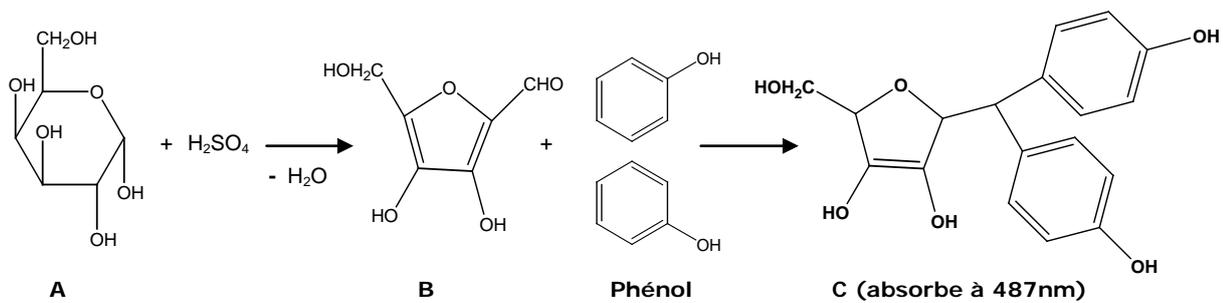


Figure n°16 : Principe du test à l'acide sulfurique et au phénol

➤ **Mesure de l'absorbance**

100µl ont été prélevés dans chaque deuxième tube du collecteur, 1 ml d'acide sulfurique et 0,5 ml de phénol ont été ajoutés. Après agitation du mélange l'absorbance a été déterminée à 487 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe numéro de tube/absorbances a été tracée et a permis de déterminer les différentes fractions de l'extrait. Ces fractions ont été concentrées, lyophilisées et gardées dans des flacons préalablement tarés.

4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Préalablement à l'analyse par CPG, les échantillons sont d'abord hydrolysés et transformés en dérivés volatils par utilisation du triméthylsilane.

4.1 Méthanolyse

La méthanolyse est une hydrolyse chimique des polysaccharides utilisant de l'acide chlorhydrique qui en présence de la chaleur découpe de longues chaînes de polymères en molécule simple.

➤ **Principe**

La solution de méthanolyse (méthanol/HCl) agit sur les molécules de polysaccharides par rupture des liaisons glucosidiques. On obtient des méthylglucosides en C₁ puis des méthylesters glucosides.

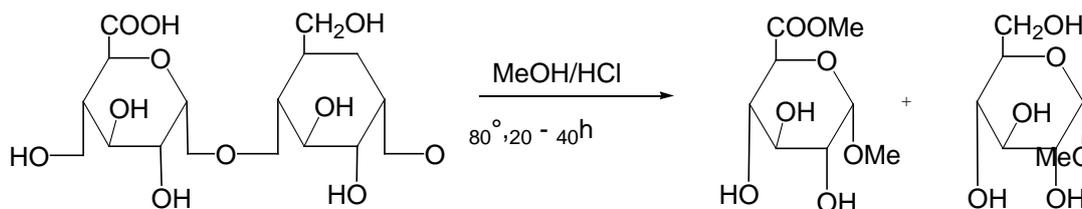


Figure n°17 : Réaction de méthanolyse (Chambers et Clamp.1971)

➤ Mode opératoire

Dans des flacons secs, 2mg des différents extraits ont été introduits, puis 1ml du mélange 4M (méthanol/HCl) et 100µl, de mannitol ont été ajoutés. Les flacons ont été ensuite agités et bien fermés. Ces derniers ont été placés dans l'étuve à 80°C pendant 24 heures. Ceux-ci ont été décompressés après 30mn d'incubation, refermés et replacés à l'étuve.

Les solutions ont été évaporées après incubation sous un courant d'air chaud et d'azote dans des conditions anhydre, puis chaque résidu a été lavé à deux reprises avec 1ml de méthanol anhydre et séché. Les flacons ont été fermés et conservés dans un dessiccateur.

4.2 Réaction de dérivation avec le triméthylsilane (TMS)

Principe

Le TMS agit sur les groupements hydroxyles libres des produits de la dépolymérisation pour donner des dérivés triméthylsilanes volatils. Des conditions anhydres sont indispensables à l'opération.

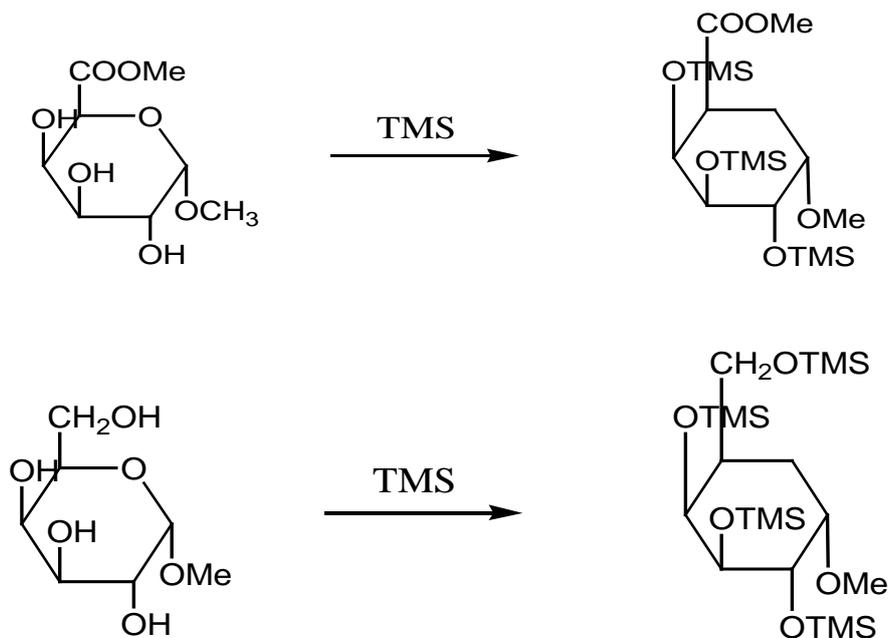


Figure n° 18 : Réaction de la formation des dérivés du TMS (*Chambres et Clamp, 1971*)

4.3 La CPG

La CPG est une technique de séparation des molécules d'un mélange sur une colonne dont la phase stationnaire est solide ou liquide et la phase mobile est un gaz porteur. Cette technique est appliquée aux substances qui sont susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans se décomposer.

- **Matériels :** Un chromatographe, hélium (gaz porteur), hydrogène, balance de précision, spatule, flacons, un bécher, étuve, micropipettes micro seringue dessiccateur agitateur.

➤ Mode opératoire

L'extrait à analyser est injecté dans la colonne à travers l'injecteur. Les substances sont rendues volatiles par la température de l'injecteur et transportées à travers la colonne par le gaz porteur. Les molécules contenues dans l'extrait sont donc séparées en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire qui provoque une rétention chromatographique dont la valeur (temps de rétention) permet l'identification des composés. A la sortie de la colonne, les composés sont détectés par un détecteur à flamme (alimenté par de l'hydrogène produit à partir d'un générateur). Les composés sont enregistrés sous forme de pics dont la surface est proportionnelle à leur quantité.



Figure n°19 : Photo du chromatographe en phase gazeuse

➤ Programme de température

Température de l'injecteur 260°C

Température du détecteur 310°C

Température de la colonne :

140°C $\xrightarrow{1^\circ\text{C} / \text{mn}}$ 170°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C} / \text{mn}}$ 250°C $\xrightarrow{30^\circ\text{C} / \text{mn}}$ 300°C

5. Formulation des pommades de 10% à tester

➤ Les matériels utilisés

Un mortier et un pilon en porcelaine, une balance de précision, un bécher, une éprouvette de 10ml, spatule, micropipette, papier aluminium, gants, pots de pommade.

➤ Les solutions utilisées : Eau distillée, gentalline injectable dosée à 40mg

➤ Les différents extraits à tester : Extrait total, Fraction I et Fraction II

➤ Excipient : Le beurre de karité « valorisé »

Le processus de valorisation du beurre de karité consiste à faire bouillir les noix au lieu de faire une fumigation lors de la production du beurre. Ce processus donne du beurre ayant une couleur assez claire avec une odeur légère.

➤ Mode opératoire

Une quantité précise d'extrait (voir tableau n°20) a été introduite dans le mortier et écrasée avec le pilon. 5 ml d'eau distillée et une quantité précise de gentalline dosée à 0,01% (voir tableau n°20), ont été ensuite ajoutés pour former une pâte avec l'extrait. Le beurre de karité a été ensuite ajouté et le tout a été mélangé jusqu'à l'obtention d'une pommade homogène. Trois types de pommade ont été formulés: Une pommade à base d'extrait décocté total nommée Pommade A, une pommade à base de la fraction I nommée pommade B et une pommade à base de la fraction II nommée pommade C.



Figure n°20 : Photo de préparation de pommade

VI. Activités biologiques

1. Activité cicatrisante : Test *in vivo*

➤ Principe

Ce test consiste à créer des plaies sur des animaux préalablement anesthésiés puis à les traiter avec les préparations de pommade à tester.

➤ Matériel animal

Les animaux utilisés étaient des lapins de couleur blanche (deux mâles et une femelle) de poids compris entre 1,500 et 2,300kg.

➤ **Matériels utilisés** : Balance en bascule, ciseaux, lame de rasoir, lame de bistouri, pince, coton, seringue à insuline, bécher, règle et spatule.

➤ Mode opératoire

Les lapins ont été marqués à la tête, au dos et à la queue dans le but de les identifier. Ils ont été pesés en vue de déterminer leur poids. Les lapins ont été rasés avec des ciseaux et une lame de rasoir. La xylocaine à 2% a été utilisée comme produit anesthésiant en raison de 5mg/kg. La dose à administrer a été calculée en fonction du poids des animaux. Les plaies d'incision d'environ 16 cm² ont été créées avec une lame de bistouri et nettoyées avec du coton avant application de la pommade. Le pansement des plaies a été fait tous les jours en raison d'une fois par jour avec une quantité précise de pommade (*environ 0,40g*) appliquée sur les plaies nettoyées avec de l'alcool à 96° C. Les mesures des plaies ont été faites tous les deux jours jusqu'à guérison complète. L'aspect, la couleur et l'odeur des plaies ont été notés pendant toute la durée du traitement.

Le pourcentage de rétrécissement (Pr) des plaies a été donné selon la formule suivante :

$$Pr. J_n = \frac{M. J_1 - M. J_n}{M. J_1} \times 100$$

D'où J_n : n^{ième} jour

J_1 : premier jour

$M. J_1$: mesure au 1^{er} jour

$M. J_n$: mesure au n^{ième} jour

2. Activité protectrice de la muqueuse gastrique : Test *in vivo*

➤ Principe

Elle consiste à vérifier l'action protectrice des extraits contre l'ulcère provoqué chez les animaux par administration d'un agent ulcérogène.

➤ Matériel animal

Les animaux utilisés étaient des rats de couleur blanche mâles et femelles de poids compris entre 90 et 205g.

➤ Les extraits en étude

- Le décoté total aux doses de 100 et 200mg/kg
- Le décoté épuisé à la dose de 100mg/kg
- Le Sucralfate à la dose de 1000mg/kg
- L'eau distillée à la dose de 10ml/kg

➤ Nombre de Lots

Au total 5 lots de quatre rats ont été constitués pour le test à raison d'un lot pour chaque dose d'extrait, un pour le témoin (Sucralfate) et un dernier pour l'eau distillée.

➤ Le jeun

Les rats ont été mis en jeun pendant 24 heures avec accès libre à de l'eau avant expérimentation.

➤ **Matériels utilisés :** Balance, seringue pour administration, éprouvettes, spatule, ciseaux, béchers, loupe, règle, tablette pour l'étalage.

➤ Réactifs

- Agent ulcérogène: Ethanol à 90%
- Eau physiologique 9‰ : utilisée pour le lavage des estomacs
- Formol à 5% : utilisé pour la fixation des ulcères

➤ Protocole expérimental

Au temps $T_0 = 0$, les rats ont reçu par voie intra gastrique les différents extraits aqueux préalablement préparés, aux doses de 100, 200 mg/kg pour le décoté total et 100 mg/kg pour le décoté épuisé. Le sucralfate a été administré à la dose de 1000 mg/kg. Le lot témoin a reçu seulement l'eau distillée à la dose de 10 ml/kg.

Une heure après les traitements, chaque rat a reçu par voie intra gastrique 0,5ml d'éthanol à 90% selon la méthode reportée par (Germano' et al. 1996). Une heure après l'agent ulcérogène les rats ont été sacrifiés. L'estomac de chaque rat a été prélevé, ouvert selon la grande courbure à l'aide d'un ciseau, lavé avec la solution physiologique, puis fixé dans la solution de formol pendant

quelques minutes. Après ce temps, chaque estomac a été bien étalé sur une tablette pour mieux observer les ulcères formés à l'œil nu et à l'aide d'une loupe. Les estomacs ont été scannés pour une meilleure vision.

La longueur de chaque ulcère a été mesurée à l'aide d'une règle graduée en mm. Le nombre et la gravité des ulcères ont été déterminés selon une échelle arbitraire de 0 à 6 reportée par Germano' et al. (1996) : **0**= pas de lésion ; **1**= 1 à 3 petites lésions $\leq 10\text{mm}$; **2** = 1 à 3 larges lésions $\geq 10\text{mm}$; **3** = 1 à 3 lésions épaisses ; **4**= plus de 3 petites lésions ; **5** = plus de 3 p larges lésions ; **6** = plus de 3 lésions épaisses

L'indice d'ulcère (IU) de chaque estomac est exprimé en fonction de la somme des points d'ulcère; et le pourcentage de protection (PP) a été calculé par rapport au groupe témoin dont la formule est la suivante :

$$PP = \frac{IU \text{ témoin} - IU \text{ traité}}{IU \text{ témoin}} \times 100$$

Deuxième partie : Résultats

I. Matériel végétal

1. Caractères macroscopiques et organoleptiques des feuilles de *Opilia celtidifolia*

Les feuilles de couleur verte, ont une forme lancéolée (le sommet et la base sont en forme pointue), sont longues de 5 à 8 cm et larges de 2 à 4 cm. La nervure principale (centrale) sépare la feuille en deux parties égales ; quant aux nervures secondaires, elles alternent de part et d'autre de la nervure centrale. Les rameaux sont de tailles variables. Les feuilles possèdent une odeur non caractéristique et ont un goût amer.

2. Caractères microscopiques de la poudre de feuilles de *O. celtidifolia*

L'analyse au microscope de la poudre de feuilles de *O. celtidifolia* a permis d'observer de très nombreuses fibres, de cristaux d'oxalates de calcium, de grains d'amidons et de fragments d'épiderme ; de même qu'une présence modérée de cellules périspermatiques et de parenchyme cortical. La figure n°21 présente la structure de ces éléments identifiés.

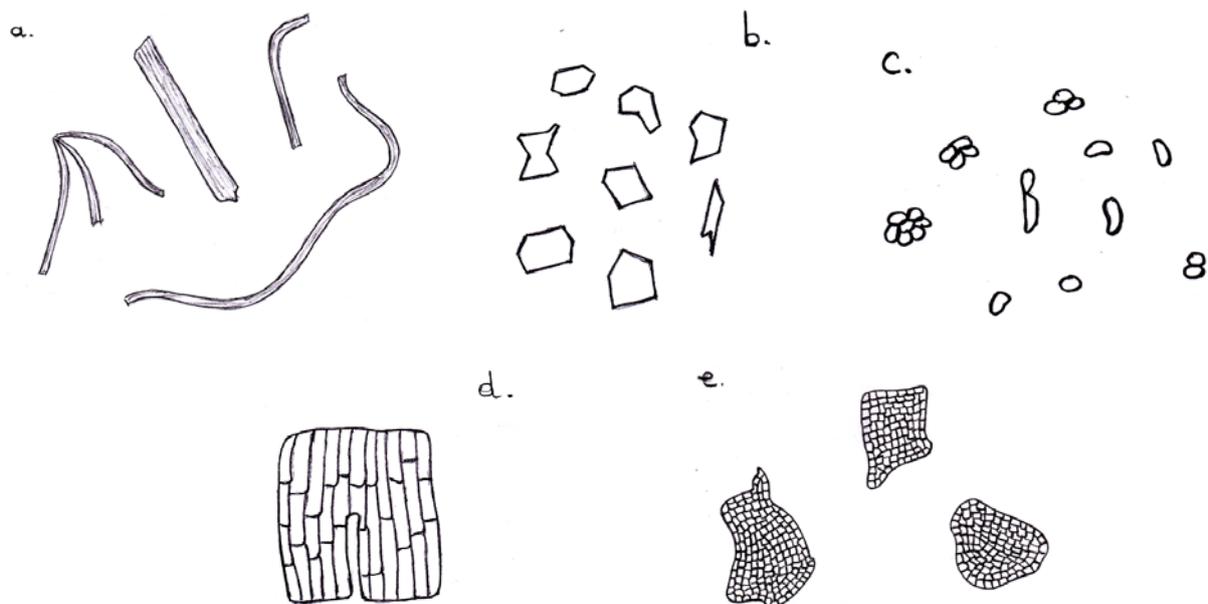


Figure n°21 : Eléments microscopiques

- a : Fibres
- b : Cristaux d'oxalate de calcium
- c : Grain d'amidon
- d : Parenchyme cortical
- e : Cellules périspermatiques

II. Contrôle de qualité

Les résultats des différents dosages exécutés figurent dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°5: Résultats des différents dosages réalisés sur la poudre de feuilles de *O. celtidifolia*

Dosage		Résultats (%)
Eau	Méthode gravimétrique	4,48
	Méthode azéotropique	6
Totales		16.39
Cendres	Chlorhydriques (10%)	4.61
	Sulfuriques (50%)	23,67
Substances extractibles par l'eau		14

La teneur en eau dans notre matériel était faible ; avec les deux méthodes utilisées nous avons obtenu un taux moyen de 5% d'eau.

III. Extraits

Le rendement, la couleur et l'aspect des différents extraits obtenus à partir de la poudre de feuilles de *O. celtidifolia* sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau n°6: Rendements et caractéristiques des extraits des feuilles de *O. celtidifolia*

Extraits	MPE	Masse d'extrait	Rendements (%)	Couleur	Aspect
DCM	460g	21,97g	4,78	Noir	Collant, pâteux.
Ethanol	460g	55,41g	12,04	Vert Noirâtre	cristaux Brillants
Décocté total	270g	48,94g	18,12	Marron verdâtre	Terne avec quelques cristaux.
Décocté épuisé	300g	43,16g	14,39	Marron	cristaux Brillants

MPE : masse prise d'essai

Le rendement le plus élevé, soit **18,12%** a été obtenu avec le décocté total et le plus faible, soit **4,78%** avec l'extrait dichlorométhane au Soxhlet.

IV. Chimie

1. Réactions de caractérisation

Les réactions en tubes ont révélé la présence de certains groupes chimiques notés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°7: Résultats des réactions de caractérisation en tubes

Groupes chimiques	Résultats
Coumarines (Fluorescence U.V.366 nm)	++
Oses et Holosides	++++
Polyuronides (mucilages)	++++
Stérols et Triterpènes (Lieberman et Burchard)	++
Saponosides	Mousse ++++
	Indice de mousse 1000
Hétérosides cardiotoniques	Raymond-Marthoud ++

Les résultats ont été interprétés comme suit :

++++ : Réaction très positive

++ : Réaction moyennement positive

- : Réaction négative

Les groupes chimiques comme les tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, caroténoïdes, anthracéniques, composés réducteurs, hétérosides cardiotoniques (Keede et Baljet), hétérosides cyanogénétiques, anthocyanes et de leucoanthocyanes n'ont pas été détectés selon les techniques utilisées.

2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les résultats de la CCM des différents extraits obtenus à partir de la poudre de feuilles de *O.celtidifolia* sont rapportés dans les tableaux et chromatogrammes ci-dessous.

Tableau n°8 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait EtOH avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, le mélange Anisaldehyde et AlCl₃ (figure n° 22, 23 et 24).

Rf	254 nm	366 nm	Godin	Mélange Anisaldehyde	AlCl ₃ (Visible et 366nm)
0,09	-	-	-	Vert	-
0,1	Visible	-	-	-	-
0,22	Visible	Rose	-	-	Rose clair
0,27	-	Tache	-	-	-
0,31	-	-	-	Gris	-
0,35	-	Bleu	-	-	-
0,40	Visible	Tache claire	-	Bleu foncé	-
0,44	-	-	Violet vif	-	-
0,51	-	-	Orange clair	Ocre	-
0,54	Visible	Tache sombre	-	Bleu noir	-
0,57	-	-	violet foncé	-	-
0,60	-	-	-	Vert moyen	Tache claire
0,65	-	-	Orange clair	-	Bleu
0,67	-	-	-	Tache	-
0,84	Visible	Rose moyen	-	-	-
0,87	-	-	-	Tache	-
0,90	Visible	Rose sur noir	-	-	-
0,94	Visible	-	-	-	-
0,95	-	-	-	-	Jaune clair
0,97	-	-	Vert	Sombre	-

La présence d'une substance ayant une fluorescence bleue au Rf : 0,35 à 366 nm, pourrait être des coumarines.

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux Rf : 0,44 et 0,57 après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides (figure n°22).

La présence d'une substance ayant une coloration Bleue aux Rf : 0,40 et 0,54 après révélation par l'Anisaldehyde, pourrait être des triterpènes (figure n°23).

La présence d'une substance ayant une coloration jaune claire au Rf : 0,95 après révélation par AlCl₃, pourrait être des flavonoïdes (figure n°24).

Tableau n°9: Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait BuOH avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, le mélange Anisaldehyde et AlCl₃ (figure n° 22, 23 et 24)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	Mélange Anisaldehyde	AlCl ₃ (Visible et 366nm)
0,51	Visible	Sombre	-	-	-
0,59	-	-	-	Tache	Sombre
0,72	-	-	-	-	Sombre
0,84	-	-	-	Tache	-
0,91	-	Rose clair	-	-	-
0,94	Visible	-	-	-	-
0,95	-	-	-	-	Jaune clair
0,96	Visible	Rose moyen	Marron	Bleu noir	Rose vive

La présence d'une substance ayant une coloration Bleue au Rf : 0,96 après révélation par l'Anisaldehyde, pourrait être des triterpènes (figure n°23).

La présence d'une substance ayant une coloration jaune claire au Rf : 0,95 après révélation par AlCl₃, pourrait être des flavonoïdes (figure n°24).

Tableau n°10 : Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait MeOH avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, le mélange Anisaldehyde et AlCl₃ (figure n° 22, 23 et 24).

Rf	254 nm	366 nm	Godin	Mélange Anisaldehyde	AlCl ₃ (visible et 366nm)
0,07	Visible	-	-	-	-
0,09	-	-	-	Vert	-
0,17	-	-	-	Tache	-
0,21	Visible	Rose	-	-	-
0,27	-	Tache	-	-	-
0,30	-	-	-	Tache	-
0,35	-	Bleu	-	-	-
0,40	Visible	-	-	Bleu noir	-
0,42	-	-	Violet clair	-	-
0,44	-	-	-	-	Bleu noir
0,47	-	Tache claire	-	Ocre	-
0,50	-	-	Orange clair	-	-
0,52	Visible	Sombre	-	Bleu très noir	-
0,54	-	-	-	-	Bleu moyen
0,56	-	-	Violet moyen	-	-
0,59	-	-	-	Vert moyen	Tache claire
0,62	-	-	Orange moyen	-	-
0,66	-	-	-	Sombre	Bleu clair
0,86	Visible	Noir sur rose	-	Tache	-
0,90	Visible	Rose clair	-	-	-
0,94	Visible	Rose moyen	-	-	Jaune clair
0,96	-	-	Vert moyen	Noir	-

La présence d'une substance ayant une fluorescence bleue au Rf : 0,35 à 366 nm, pourrait être des coumarines.

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux Rf : 0,42 et 0,56 après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides (figure n°22).

La présence d'une substance ayant une coloration Bleue aux Rf : 0,40 et 0,52 après révélation par l'Anisaldehyde, pourrait être des triterpènes (figure n°23).

La présence d'une substance ayant une coloration jaune claire au Rf : 0,94 après révélation par AlCl₃, pourrait être des flavonoïdes (figure n°24).

Tableau n°11: Facteurs de rétention et coloration des substances du macéré avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, le mélange Anisaldehyde et AlCl₃ (figure n° 22, 23 et 24)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	Mélange Anisaldehyde	AlCl ₃ (366nm)
0	Visible	-	-	-	Rose clair
0,09	Visible	-	-	Vert moyen	-
0,12	-	Rose	-	-	-
0,20	Visible	Rose	-	-	Rose clair
0,27	-	Tache	-	-	-
0,31	-	-	-	Tache	-
0,41	Visible	Bleu	-	Tache	-
0,46	-	Tache claire	-	Vert moyen	-
0,51	Visible	Tache	Violet clair	Bleu clair	-
0,57	-	-	Violet clair	-	-
0,65	-	-	-	Bleu un peu noir	Bleu clair
0,69	-	-	Violet clair	-	-
0,75	-	Tache	-	Bleu clair	Bleu noir
0,86	Visible	Rose noir	-	-	Tache claire
0,94	-	-	-	-	Vert clair
0,96	-	-	Ocre	Bleu foncé	-

La présence d'une substance ayant une fluorescence bleue au Rf : 0,41 à 366 nm, pourrait être des coumarines.

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux Rf : 0,51 ; 0,57 et 0,69 après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides (figure n°22).

La présence d'une substance ayant une coloration Bleue aux Rf : 0,51 ; 0,65; 0,75 et 0,96 après révélation par l'Anisaldehyde, pourrait être des triterpènes (figure n°23).

Tableau n°12: Facteurs de rétention et coloration des substances de l'infusé avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, le mélange Anisaldehyde et AlCl₃ (figure n° 22, 23 et 24)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	Mélange Anisaldehyde	AlCl₃ (366nm)
0	Visible	-	-	Vert	Rose clair
0,07	Visible	-	-	-	-
0,09	-	-	Marron clair	Vert marron	-
0,12	-	Rose avec noir	-	-	-
0,20	Visible	Rose avec noir	-	-	Rose clair
0,25	-	Tache	-	-	-
0,30	-	-	-	Tache	-
0,32	-	Tache	-	-	-
0,41	Visible	-	Violet clair	Bleu foncé	-
0,47	-	Tache claire	Violet clair	Vert foncé	-
0,51	Visible	Sombre	Orange clair	-	Bleu noir
0,54	-	-	-	Bleu noir	-
0,57	-	-	Violet moyen	-	Sombre
0,60	-	-	-	Vert moyen	-
0,64	-	-	Orange clair	-	Bleu clair
0,66	-	-	-	Sombre	-
0,69	-	-	-	-	Tache claire
0,87	Visible	Tache	-	-	-
0,91	-	-	-	-	Rose clair
0,95	-	-	-	Bleu clair	-

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux Rf : 0,41 ; 0,47 et 0,57 après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides (figure n°22).

La présence d'une substance ayant une coloration Bleue au Rf : 0,41 ; 0,54 et 0,95 après révélation par l'Anisaldehyde, pourrait être des triterpènes (figure n°23).

Tableau n°13: Facteurs de rétention et coloration des substances du décocté avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin, le mélange Anisaldehyde et AlCl₃ (figure n° 22, 23 et 24)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	Mélange Anisaldehyde	AlCl₃ (visible et 366nm)
0	Visible	Rose avec noir	Marron clair	Noir	Jaune clair
0,06	Visible	-	-	-	-
0,1	-	Tache	Marron clair	Vert moyen	-
0,21	Visible	Rose	-	-	Rose clair
0,27	-	Bleu	Marron clair	-	-
0,31	-	-	-	Tache	-
0,35	-	Tache	-	-	-
0,44	Visible	-	-	-	-
0,51	-	Tache claire	Violet+orange	Bleu noir	-
0,55	Visible	-	-	-	Bleu noir
0,57	-	Sombre	Violet	Bleu moyen	-
0,61	-	-	-	Vert moyen	Tache claire
0,64	-	-	Orange clair	-	-
0,67	-	-	-	Vert moyen	Bleu clair
0,70	-	-	Violet	-	Tache claire
0,86	Visible	Rose moyen	-	-	-
0,92	-	-	-	-	Rose claire
0,94	Visible	Rose clair	Vert marron	Noir	-

La présence d'une substance ayant une fluorescence bleue au Rf : 0,27 à 366 nm, pourrait être des coumarines.

La présence d'une substance ayant une coloration violette aux Rf : 0,51 ; 0,57 et 0,70 après révélation par le Godin, pourrait être des saponosides (figure n°22).

La présence d'une substance ayant une coloration Bleue au Rf : 0,51 et 0,57 après révélation par l'Anisaldehyde, pourrait être des triterpènes (figure n°23).

La présence d'une substance ayant une coloration jaune claire au Rf : 0 après révélation par AlCl₃, pourrait être des flavonoïdes (figure n°24).



Figure n°22 : Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par le Godin

- Front du solvant : 8cm
- Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- Dépôt : 10 µl
- Eluant : B.A.W (65-15-25)
- Révélateur : Godin



Figure n°23: Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par le Mélange Anisaldehyde

- **Front du solvant :** 8cm
- **Support :** Plaque de Silice G60F₂₅
- **Dépôt :** 10 µl
- **Eluant :** B.A.W (65-15-25)
- **Révéléateur :** Mélange Anisaldehyde

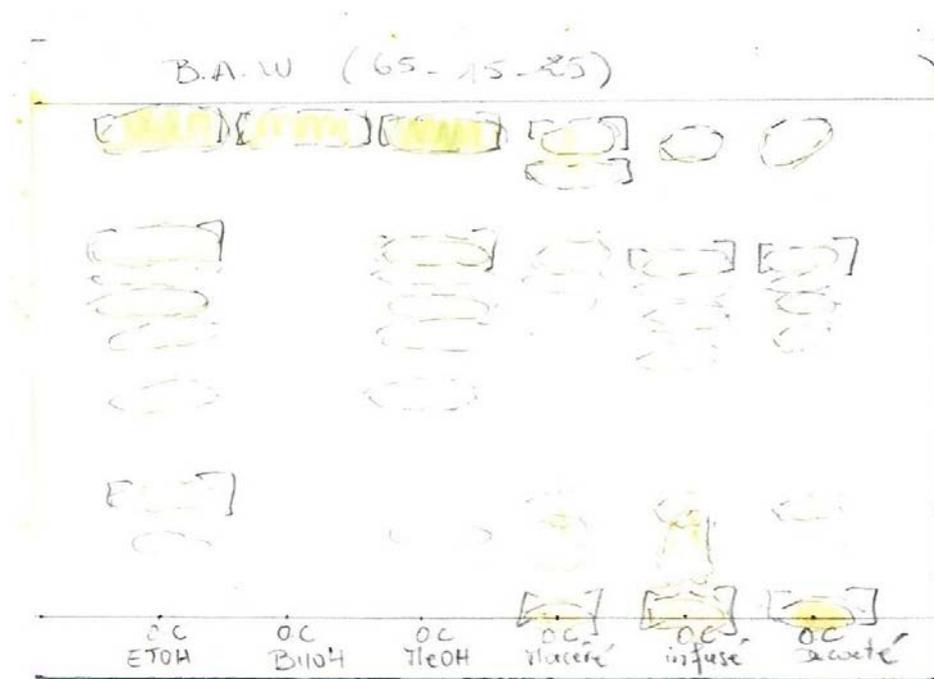


Figure n°24: Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révélé par AlCl_3

- Front du solvant : 8cm
- Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- Dépôt : 10 μl
- Eluant : B.A.W (65-15-25)
- Révélateur : AlCl_3

Le FeCl_3 ayant pour but de révéler les tanins n'a rien donné avec les extraits alcooliques et aqueux (figure n°25)

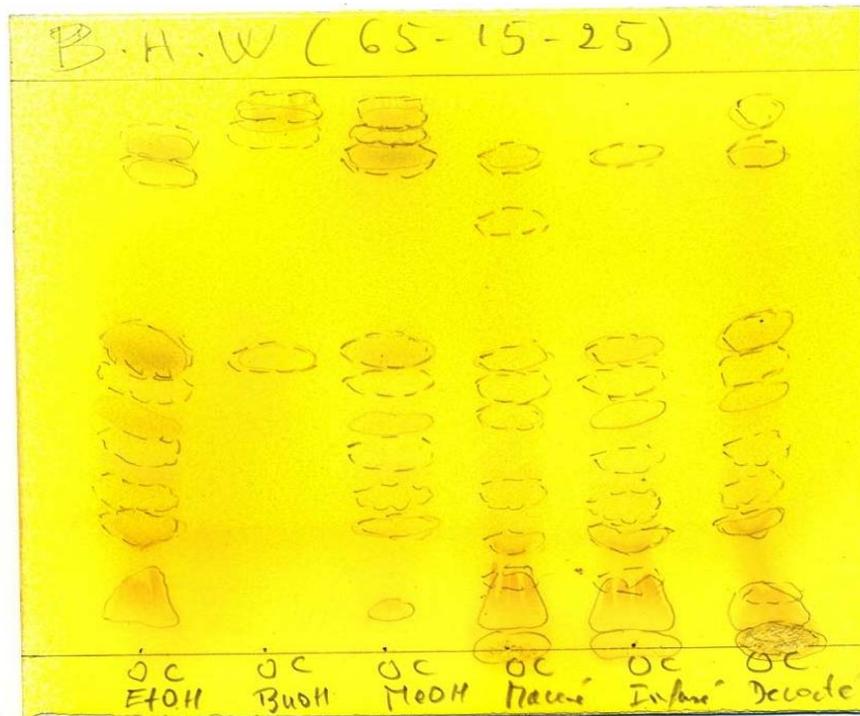


Figure n°25: Chromatogramme des extraits aqueux et alcooliques révéler par FeCl_3

- Front du solvant : 8cm
- Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- Dépôt : 10 μl
- Eluant : B.A.W (65-15-25)
- Révélateur : FeCl_3

Tableau n°14: Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Ether de pétrole avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl₃ (figure n° 26 et 27)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	AlCl ₃ (366nm)
0	-	Rose clair	Violet clair	-
0,49	Visible	-	-	-
0,50	-	-	-	Rose clair
0,59	-	Tache	-	-
0,69	-	Tache	-	-
0,92	-	-	-	Sombre
0,94	Visible	Tache	Vermillon	-

Tableau n°15: Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait Hexane avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl₃ (figure n° 26 et 27)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	AlCl ₃ (366nm)
0	-	Rose très clair	Violet clair	-
0,20	Visible	-	-	-
0,50	Visible	Rose clair	-	Rose clair
0,57	-	Tache	-	-
0,69	-	Tache	-	-
0,92	-	-	-	Sombre
0,94	Visible	Tache	Rouge foncé	-

Tableau n°16: Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait DCM avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl₃ (figure n° 26 et 27)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	AlCl ₃ (visible et 366nm)
0	Visible	Orange clair	Marron	Jaune clair
0,02	Visible	Rose clair	-	-
0,04	-	-	-	Orange clair
0,12	-	-	-	Jaune clair
0,14	Visible	Rose clair	-	Rose clair
0,20	Visible	Rose clair	-	-
0,27	Visible	Rose clair	-	-
0,37	Visible	Rose clair	-	-
0,46	Visible	Rose	Orange clair	Rose
0,47	-	-	-	Jaune clair
0,50	Visible	Rose	Tache	-
0,52	-	-	-	Rose clair
0,57	Visible	Rose sombre	Vert	-
0,59	-	-	-	Rose foncé
0,70	-	Tache	-	-
0,75	-	Tache	-	-
0,84	-	Tache	-	-
0,94	Visible	Tache	-	-
0,96	-	-	Rouge	Sombre

La présence d'une substance ayant une coloration jaune claire aux Rf : 0 ; 0,12 et 0,47 après révélation par AlCl₃, pourrait être des flavonoïdes (figure n°27).

Tableau n°17: Facteurs de rétention et coloration des substances de l'extrait CHCl₃ avant (254 nm et 366 nm) et après révélation par le Godin et AlCl₃ (figure n° 26 et 27)

Rf	254 nm	366 nm	Godin	AlCl ₃ (visible et 366nm)
0	Visible	Orange	Marron	Jaune clair
0,02	Visible	-	-	Orange clair
0,04	-	Rose clair	-	-
0,12	Visible	Rose moyen	-	Jaune clair
0,14	-	-	Orange clair	Rose clair
0,16	-	Rose clair	-	-
0,19	Visible	-	-	-
0,21	Visible	-	-	-
0,25	Visible	Rose très clair	-	-
0,35	-	Rose très clair	-	-
0,37	Visible	-	-	-
0,46	Visible	Rose	Orange clair	-
0,50	Visible	Rose	Tache	Rose
0,54	-	-	-	Rose clair
0,57	-	-	Vert moyen	-
0,60	Visible	Rose sur noir	-	Rose foncé
0,72	-	Tache	-	-
0,87	Visible	Tache claire	-	-
0,96	Visible	Tache claire	Rouge	-

La présence d'une substance ayant une coloration jaune claire aux Rf : 0 et 0,12 après révélation par AlCl₃, pourrait être des flavonoïdes (figure n°27).

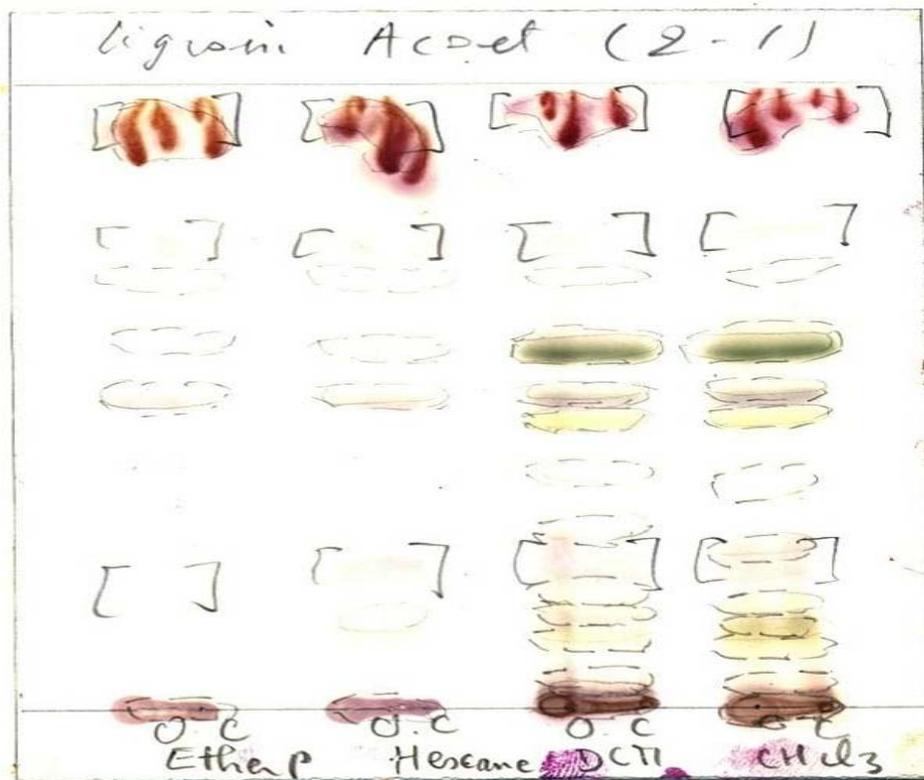


Figure n°26: Chromatogramme des extraits organiques révélé par le Godin

- Front du solvant : 8cm
- Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- Dépôt : 10 µl
- Eluant : ligroïne – acétate d'éthyle (2- 1)
- Révélateur : Godin

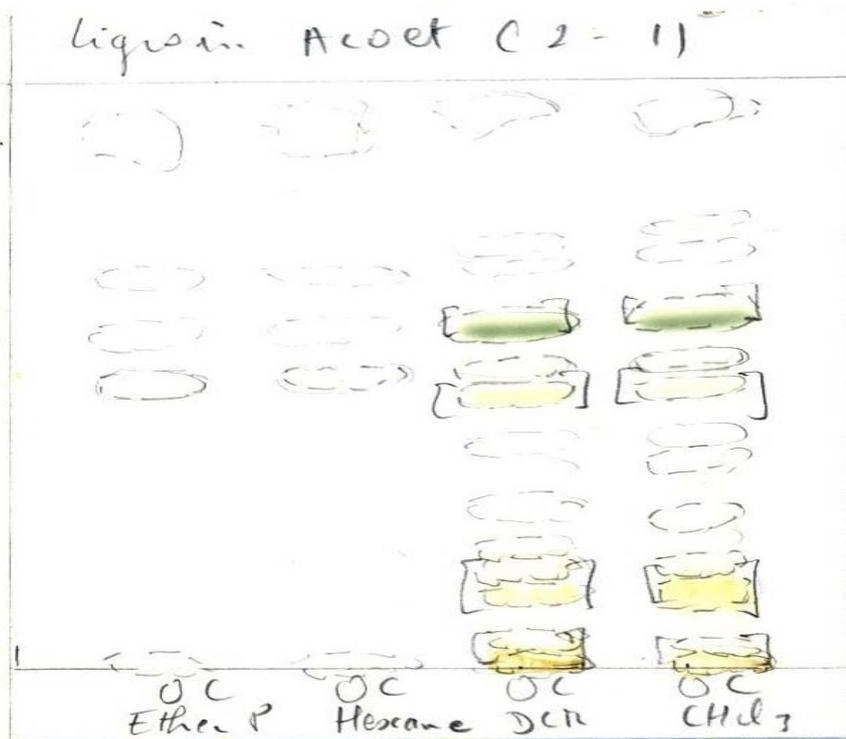


Figure n°27: Chromatogramme des extraits organiques révéle par AlCl₃

- Front du solvant : 8cm
- Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- Dépôt : 10 µl
- Eluant : ligroïne – acétate d'éthyle (2- 1)
- Révélateur : AlCl₃

Les extraits DCM et CHCl_3 ont révélé avec FeCl_3 une tache brune verdâtre aux Rf respectifs 0,46 et 0,49 (figure n°28), ces taches pourraient être des substances polyphénoliques.

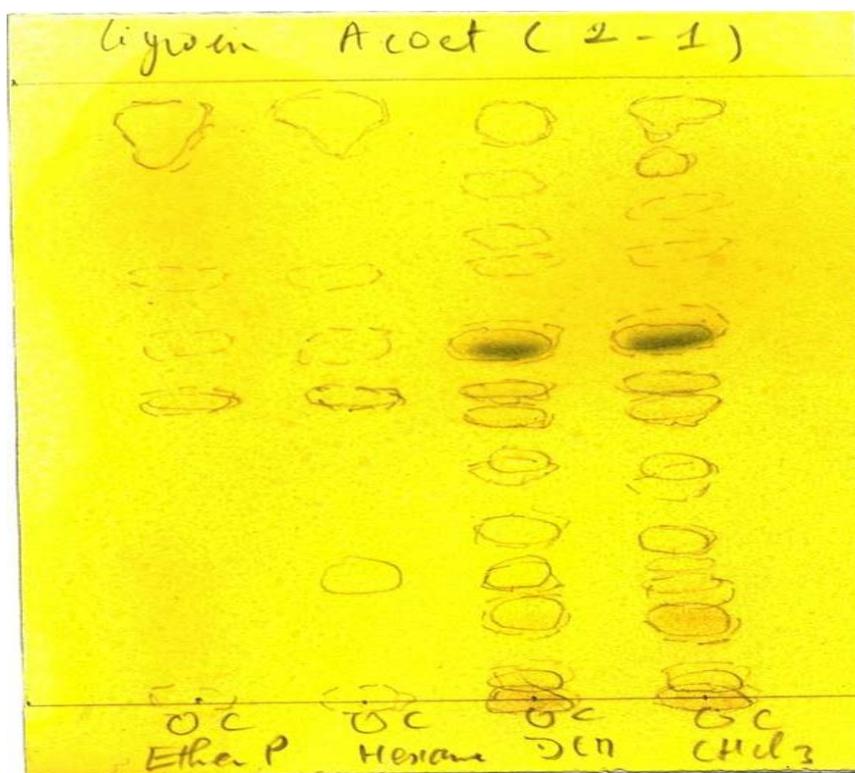


Figure n°28: Chromatogramme des extraits organiques révélé par FeCl_3

- Front du solvant : 8cm
- Support : Plaque de Silice G60F₂₅₄
- Dépôt : 10 μl
- Eluant : ligroïne – acétate d'éthyle (2- 1)
- Révélateur : FeCl_3

3. Chromatographie sur colonne :

La chromatographie sur colonne a permis d'identifier 3 fractions polysaccharides en fonction de leur teneur en sucre dosée par la méthode de l'acide sulfurique et du phénol. Le profil d'élution de ces fractions est présenté sur le schéma de fractionnement ci-dessous (figure n°29).

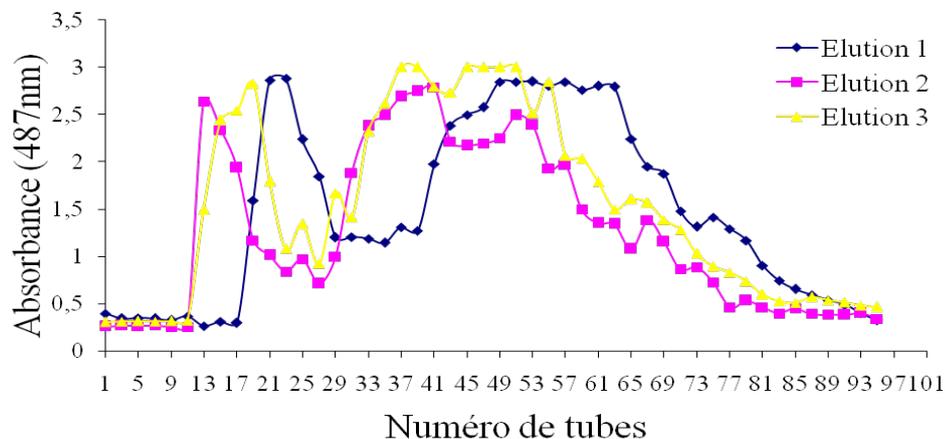


Figure n°29: Courbes de fractionnement du décocté épuisé des feuilles de *O.celtidifolia* sur Biogel, P6

Le numéro des tubes, la couleur et l'aspect des fractions après lyophilisation sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°18: Numéro des tubes, coloration et aspect des différentes fractions de l'extrait aqueux.

Extrait	Fractions	n° des tubes	Couleur	Aspect
Décocté épuisé	F1	11- 35	Grise claire	Floconneux
	F2	36- 73	Marron foncé	cristaux Brillant
	F3	74- 95	Marron clair	Cristaux Brillant légèrement floconneux

4. Chromatographie en phase gazeuse :

La teneur en sucre et la composition en monosaccharides des polysaccharides contenus dans les fractions (I, II, III) ; le décocté total (DT) et le décocté épuisé (DE) est donné dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°19: Composition en monosaccharides des polysaccharides des extraits et fractions

Monosaccharides	DT	DE	FI	FII	FIII
Arabinose	4.49	5.6	20.9	5.39	2.66
Rhamnose	5.08	7.2	2.72	9.27	3.06
Xylose	3.44	4.01	1.35	1.54	1.0
Mannose	1.22	2.0	1.97	0.96	1.15
Galactose	4.95	8.55	18.4	7.72	10.12
Glucose	6.42	5.25	3.32	6.11	6.61
Acide Glucuronique	4.28	3.29	4.11	1.54	4.33
Acide Galacturonique	3.37	13.75	15.08	27.48	4.14
% Hydrates de carbone	33.26	53.65	67.85	60.01	33.07

La fraction I contenait la plus forte teneur en polysaccharides (68%). Le décocté total avait une teneur en sucre inférieure à celle du décocté épuisé et la fraction III était assez pauvre en sucre. L'arabinose, le galactose, le rhamnose et l'acide galacturonique étaient les monosaccharides majoritaires des polysaccharides contenus dans l'extrait brut et les fractions.

5. Pommades de 10% formulées :

La composition des différentes pommades à tester a été dressée dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°20 : composition des différentes pommades testées pour l'activité cicatrisante

pommades	Pommade A	Pommade B	Pommade C
composition			
Quantité d'extrait	10g	1g	5g
Eau distillée	5ml	5ml	5ml
Beurre de karité	90g	9g	45g
Gentalline	0,5ml	0,05ml	0,25ml

V. Activités biologiques

1. Activité cicatrisante :

Le processus de guérison s'est passé par plusieurs phases ; une disparition progressive de l'inflammation (plaies devenaient moins rouges figure n°30), une phase de contraction (les plaies devenaient dures et se couvraient de croûtes un peu noirâtres, figure n°31); Le traitement a permis d'obtenir une guérison complète des plaies (figure n°32). L'utilisation de la gentalline dans la préparation des pommades à favoriser l'absence d'infection. Les plaies étaient sans odeur tout au long du traitement.

1.1 Plaies traitées avec la pommade A

Les deux plaies traitées avec la pommade A à base du décocté total des feuilles de *O. celtidifolia* ont guéri au bout de **11 jours** pour la première et **20 jours** pour la seconde. Elles ont été traitées avec une quantité d'environ *0,40g* de pommade pendant les premiers jours de traitement jusqu'à ce que les plaies atteignent approximativement 50% de retrecissement. Ensuite la quantité de pommade appliquée était de *0,20g* jusqu'à la guérison.

La figure ci-dessous montre les images des plaies traitées avec la pommade A au J1 (création de la plaie), J7 (lorsque la plaie a atteint 50% de rétrécissement) et J21 (repousse des poils). En 20 jours de traitement la pommade à base du décocté total a entraîné une guérison totale de la plaie cutanée, le remodelage des tissus et la repousse des poils.



Figure n°30 : Photo des plaies traitées avec la pommade A

1.2 Plaies traitées avec la pommade B

La pommade B à base de la fraction polysaccharidique I a entraîné une guérison des plaies cutanées en **11 jours** pour la première plaie et **17 jours** pour la seconde. La quantité initiale de pommade utilisée pour le traitement était de *0,40g*. Cette quantité diminuait de 50% lorsque la plaie atteignait 50% de retrecissement. Les images ci-dessous montrent le retrecissement des plaies en fonction de la durée de traitement.



Figure n°31: Photo des plaies traitées avec la pommade B

1.3 Plaies traitées avec la pommade C

Les plaies traitées avec la pommade C préparée à base de la fraction FII du décocté épuisé ont guéri au bout de **12 jours**. La figure ci-dessous montre la guérison des plaies en fonction du temps. Les mêmes quantités de pommade ont été utilisées comme précédemment.



Figure n°32: Photo des plaies traitées avec la pommade C

1.4 Plaies traitées avec le beurre de karité

Les deux plaies traitées avec le beurre de karité ont guéri au bout de **14 jours**. Les mêmes quantités de pommade ont été utilisées comme précédemment (figure n°33).



Figure n°33: Photo des plaies traitées avec le beurre de karité

1.5 Plaies traitées avec l'auréomycine 3%

L'auréomycine 3% a induit la guérison des plaies en **12 jours**. Elle a été utilisée selon les mêmes conditions et quantités que les produits à tester (figure n°34).



Figure n°34: Photo des plaies traitées avec l'auréomycine 3%

1.6 Plaie traitée avec la crème Amustil (une crème cicatrisante)

La plaie traitée avec la crème Amustil a guéri au bout de **9 jours**. Cette dernière a été traitée avec une quantité d'environ 0,40g pendant quelques jours et 0,20g jusqu'à guérison.



Figure n°35: Photo des plaies traitées avec Amustil

1.7 Plaie non traitée

La plaie non traitée a guéri au bout de **20 jours** (figure n°36)



Figure n°36 : Photo des plaies non traitées

Tableau n°21 : Récapitulatif des pourcentages de rétrécissement des plaies

Pdes	% de rétrécissement de la surface initiale des plaies dans le temps																	
	J1	J3	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	J15	J16	J17	J18	J19	J20
T	0	-	7,5	-	22,5	-	37,5	-	-	50	-	67,5	-	80	-	-	92,5	100
BK	0	36,3	-	38,8	-	56,3	-	73,8	-	-	93,8	100						
A	0	34,5	-	-	55	-	73,3	-	76,5	-	-	-	-	91	-	97,5	-	100
B	0	29,8	46,3	-	-	58,8	-	79,8	-	-	-	-	-	95,5	-	100		
C	0	20,3	-	-	36,8	-	81,6	-	97,5	100								
Au	0	22,5	34	-	-	55,3	-	86,4	-	100								
Am	0	22,5	-	-	70	-	100											

Pdes : pommades ; T : témoin (plaie non traitée) ; BK : beurre de karité, Au : Auréomycine ; Am : Amustil

La durée de traitement a été la même pour la pommade C préparée à base de la deuxième fraction polysaccharidique et l'auréomycine (12 jours). La pommade A ne semble pas avoir démontré un effet de cicatrisation notoire puisque les plaies traitées avec cette pommade ont guéri au même rythme que les plaies non traitées. L'excipient (le beurre de karité) utilisé dans la fabrication des pommades testées a montré aussi une activité de cicatrisation supérieure à celle de l'extrait total (pommade A).

2. Activité protectrice de la muqueuse gastrique:

Cette étude a permis d'évaluer le degré de protection de la muqueuse gastroduodénale par *O.celtidifolia* contre les ulcérations causées par l'éthanol à 90% chez les rats (figure n°37).

Tableau n°22: Activité protectrice de la muqueuse gastrique des décoctés total et épuisé des feuilles de *Opilia celtidifolia* contre l'ulcère provoqué par l'éthanol 90% pendant 60 minutes chez les rats.

Produits	Doses/kg	Indice d'Ulcère (IU ± DS)	Protection en %
Eau distillée	10 ml	3,20±1,09	---
Décocté total	100 mg	2,20±1,64 NS	31,25
Décocté total	200 mg	0,60±0,37**	81,25
Décocté épuisé	100 mg	0,80±0,27**	75,00
Sucralfate	1000 mg	0,40 ±0,54**	87,50

N= 5 rats par groupe ; Les résultats sont exprimés en moyenne de l'indice d'ulcère plus ou moins la déviation standard (IU) \pm (DS), La significativité est exprimée par : NS = non significatif ; **très significatif avec $P < 0,01$ test de Student (comparé au groupe témoin traité avec l'eau).

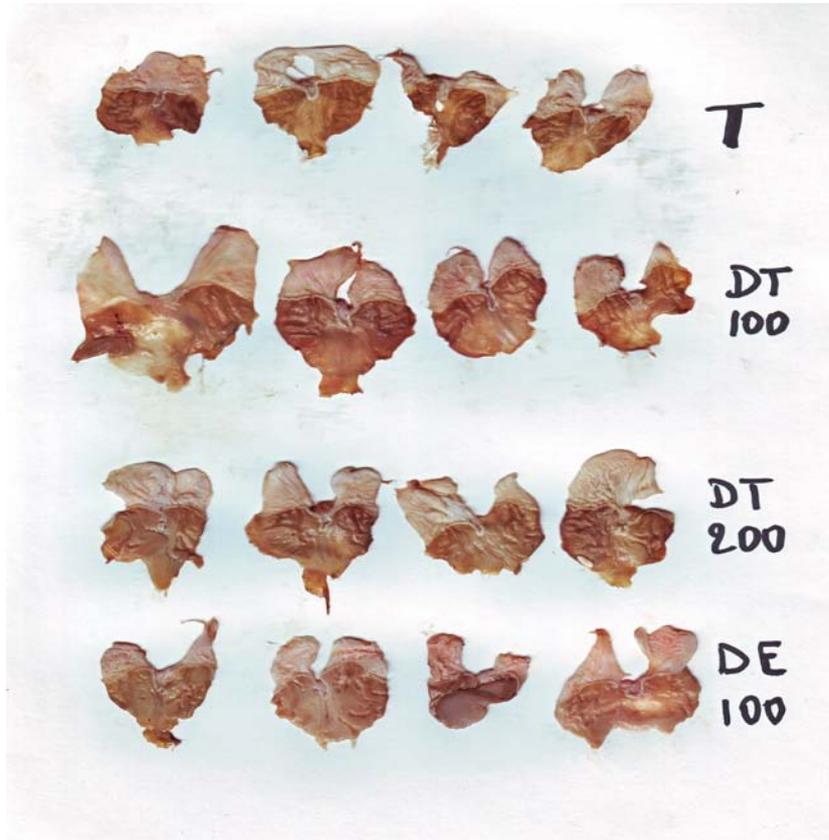


Figure n°37: Photo des estomacs de rats non traités et traités

Troisième partie : Analyses et discussion

Opilia celtidifolia est une plante bien connue par les tradipraticiens de santé pour le traitement de plusieurs maladies comme le paludisme, les dermatoses, les douleurs abdominales, comme apéritif, contre les plaies, les vers intestinaux etc... (Malgras 1992 ; Kerharo et Adams 1974 ; Togola et al. 2005).

Notre travail est une investigation à l'étude de la propriété cicatrisante des feuilles de *Opilia celtidifolia*. Le choix de cette plante a été basé sur les informations ethnobotaniques et les résultats des tests de fixation du complément. Les feuilles de cette plante possèdent des propriétés cicatrisantes des plaies en Médecine Traditionnelle (Diallo et al. 2002 ; Inngjerdingen et al. 2004 ; Togola et al. 2005) et elles contiennent aussi des polysaccharides ayant une propriété d'activation de plusieurs composantes du système immunitaire notamment le complément, les macrophages, les lymphocytes B et T (Togola et al. 2007).

De nombreux travaux ont démontré que les plantes utilisées traditionnellement comme cicatrisant possèdent des propriétés d'activation du système immunitaire; cette activation serait due à la présence des polysaccharides, qui seraient responsables de la guérison des plaies externes et de l'ulcère gastroduodénale (Yamada et Kiyohara, 1999 ; Nergård et al. 2005).

Notre drogue constituée de feuilles, a été récoltée à Blendio dans la région de Sikasso. L'étude a été faite sur les feuilles sèches et pulvérisées à l'aide d'un moulin.

Au préalable, une étude macroscopique et microscopique a été menée. L'observation à l'œil nu des feuilles de *O.celtidifolia* a montré des résultats similaires avec ceux de Berhaut (Flore du Sénégal, 1967) : forme lancéolée, longues de 5 à 8 cm et larges de 2 à 4 cm et sont de couleur verte. Quant à la microscopie, elle nous a révélé une présence abondante de fibres, de cristaux d'oxalates de calcium et de grains d'amidon. Une présence de cellules périspermatiques a été observée.

Une étude phytochimique a été réalisée pour la détermination des groupes chimiques par des réactions en tubes et les méthodes chromatographiques.

Les réactions en tubes ont révélé :

- La présence modérée de coumarines, d'hétérosides cardiotoniques (avec le réactif de Raymond-Marthoud), les stérols et triterpènes.
- La présence en proportion très élevée de saponosides, de mucilages, d'oses et holosides.

Ces différents résultats sont similaires à ceux de Sangaré (2004) à la différence que cet auteur a trouvé une forte présence de composés réducteurs dans les feuilles de *O.celtidifolia* testées. Celle-ci peut être due à plusieurs facteurs tels que la période de récolte, la composition du sol, l'âge de la plante récoltée etc.

Par rapport aux travaux de Koudouvo (2009) qui a trouvé des tanins, des alcaloïdes et des flavonoïdes ; ces résultats sont complètement différents du notre excepté la présence abondante de saponosides. Cette différence peut être due à la nature du solvant d'extraction, surtout à la nature et à la composition du sol etc.

La littérature rapporte plusieurs propriétés biologiques que peuvent conférer ces substances à la plante. La présence de coumarines pourrait conférer des propriétés anticoagulantes. La présence d'hétérosides cardiotoniques mérite une confirmation vu qu'ils ont été obtenus avec un seul réactif (Raymond-Marthoud). Cette présence peut s'expliquer par l'hypersensibilité de la réaction (Paris 1986). Les composés terpéniques (stérols et triterpènes) présents, confèrent à la plante une propriété antipyrétique, souvent analgésique et anti inflammatoire (Bruneton 1993 ; Gupta 1980). Les saponosides sont utilisés par plusieurs végétaux dans leur système de défense antimicrobienne. Certains d'entre eux confèrent à la plante des propriétés antiinflammatoire, antalgique, antioedemateuse et hémolytique (Bruneton 1993). Les mucilages quant à eux, considérés comme des constituants cellulaires normaux sont très recherchés pour leurs propriétés cicatrisantes (Bruneton 1993). Ainsi les mucilages de *O. celtidifolia* pourraient être utilisées dans la réalisation de certaines préparations à application locale, pour la prévention des plaies et d'autres affections cutanées. *O. celtidifolia* n'a pas fait l'objet de plusieurs études scientifiques, mais les utilisations traditionnelles recueillies au niveau de la littérature et lors des enquêtes ethnobotaniques stipulent les différentes propriétés dont ces groupes chimiques isolés pourraient être responsables.

Pour le contrôle de qualité, il a été prouvé que la poudre se prêtait bien à une bonne conservation sans altération des substances actives avec une teneur en eau inférieure à **10%** (normes établies par la pharmacopée internationale), soit **6%** par la méthode azéotropique et **4,48%** par la méthode pondérale. Ce taux empêche les réactions d'oxydation, de fermentation et la formation de moisissures dans notre drogue (OUA/CSTR 1988).

Les cendres totales renseignent sur la charge en éléments minéraux, les cendres sulfuriques quant à elles résultent de la conversion de sels organiques en sulfates et les cendres chlorhydriques insolubles dans l'acide chlorhydriques renseignent sur les matières siliceuses.

Les différents dosages effectués ont donné **16,39%** de cendres totales, **23,67%** de cendres sulfuriques et **4,61%** de cendres chlorhydriques. Un taux de cendres chlorhydriques faible indique l'absence ou un faible taux d'impuretés dans la matière végétale. La teneur de substances extractibles par l'eau environ **14%** exprime la quantité de substances solubles dans l'eau. L'importance de cette teneur est grande dans le cadre de notre étude puisque les substances d'intérêt sont les polysaccharides hydrosolubles.

Le meilleur rendement d'extraction (**18,12%**) a été obtenu avec le décocté total tandis que le dichlorométhane a donné le plus faible rendement **4,78%**.

Il a été remarqué que les extraits aqueux ont un rendement supérieur à celui des extraits organiques. Ceci est en faveur des formes d'utilisations traditionnelles des plantes par les tradipraticiens de santé, puisqu'une grande quantité de composés sont solubles dans l'eau.

L'observation à l'UV et la révélation des chromatogrammes avec les réactifs suivants : Godin, mélange Anisaldehyde, le chlorure d'aluminium et le chlorure ferrique, ont permis de confirmer la présence de saponosides qui donne une coloration violette avec le réactif de Godin, de stéroïls et triterpènes qui donne une coloration bleue avec le mélange Anisaldehyde. Aucune présence de flavonoïdes n'a été détectée par les réactions en tubes alors que la CCM a révélé des tâches jaunes avec $AlCl_3$ qui sont caractéristiques des flavonoïdes. Cette différence de résultats entre ces deux processus phytochimiques peut s'expliquer par la différence de solvant d'extraction. Les flavonoïdes ont été observés après CCM avec des extraits alcooliques alors que la caractérisation des flavonoïdes a été effectuée sur un infusé à 5%. Ces composés peuvent conférer à la plante des propriétés de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (*Bruneton 1993*).

La chromatographie sur colonne a permis d'obtenir trois fractions nommées FI, FII et FIII. La teneur en sucre et la composition en monosaccharide de ces fractions ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse. Il a été remarqué que FI, avec une teneur de **67,85%** était la fraction la plus riche en sucre. Les différents monosaccharides présents dans les différents extraits et fractions sont : Arabinose, Rhamnose, Xylose, Mannose, Galactose, Glucose, Acide Glucuronique, Acide Galacturonique. La fraction I était composée essentiellement d'Arabinose (**20,9%**) et de Galactose (**18,4%**). La fraction II est la plus riche en Acide Galacturonique (**27,48%**) et avec **9,27%** de Rhamnose. La forte teneur en polysaccharides isolés en Arabinose, Galactose, Rhamnose et Acide Galacturonique indique la présence d'Arabinogalactanes qui sont les polysaccharides majoritaires dans FI et de Rhamnogalacturonans majoritaires dans FII. Ces deux types de polymères sont reconnus pour leur propriété d'activation des composantes du système immunitaire (*Togola et al. 2007*). Ceci pourrait expliquer l'utilisation de cette plante dans le traitement des plaies.

L'un des objectifs de ce travail était de déterminer l'activité cicatrisante d'extraits polysaccharidiques de *O. celtidifolia*. Pour ce faire, trois types de pommades ont été formulés avec les extraits obtenus, le premier à base du décocté total (pommade A), le second à base de la fraction I (pommade B) et le dernier à base de la fraction II (pommade C). La fraction III n'a pas été étudié en raison de sa teneur en sucre largement inférieure à celle des autres fractions (**33,07%**). En

plus, les polysaccharides étant des composés de haut poids moléculaire sont plus susceptibles d'être présents dans les deux premières fractions. Les sucres présents dans la fraction III sont très probablement des oligo et monosaccharides qui de façon générale ne renferment pas les propriétés biologiques recherchées dans le cadre de cette étude.

Les extraits ont été formulés sous forme de pommade ; étant une préparation semi solide, cette forme est destinée à être appliquée le plus souvent sur la peau dans le but de libérer localement (de façon transdermique) les principes actifs. Son application sur une plaie est plus facile que celle du lyophilisat et elle permet une estimation correcte de la quantité du produit utilisée pour le traitement. Le choix du beurre de karité comme excipient dans la formulation des pommades était motivé par sa propriété adoucissante sur la peau qui probablement augmenterait l'activité des polysaccharides, et par son coût peu élevé qui aurait un impact sur le coût d'un éventuel phytomédicament cicatrisant à base de *O. celtidifolia*. Une concentration de 10% d'extrait pour la formulation de la pommade a été choisie.

La gentalline a été incorporée à 0.01% pour prévenir une éventuelle infection des plaies étant donné que le protocole du test ne prévoyait pas l'utilisation de pansement, de ce fait, il est difficile de réunir toutes les conditions d'asepsie chez les animaux d'étude (*Choi et al. 2001*)

L'activité cicatrisante a été effectuée sur des lapins. Les pommades ont été appliquées quotidiennement sur des plaies d'incision superficielle (16cm²) sur la peau épilée des animaux. La guérison des plaies était l'objectif de ce test et le paramètre de comparaison des produits testés et témoins était le nombre de jours nécessaires pour le traitement.

Une guérison complète des plaies a été obtenue en 12 jours pour la pommade C (FII) qui était plus active que la pommade A (20jours) et B (17 jours). Cette pommade a donné une activité similaire à celle de l'auroéomycine qui est largement utilisée dans le traitement des plaies humaines. Le fait que la pommade à base de FII soit plus active que celle préparée avec FI trouve une corrélation avec les activités immunomodulatrices déjà décrites pour ces deux fractions *in vitro*. La fraction FII riche en rhamnogalacturonan a montré une activité de fixation du complément (CIH₅₀ = 0.5µg/ml) supérieure à celle de FI (CIH₅₀ = 0.9µg/ml), et aussi une activité de prolifération des lymphocytes T (24% de prolifération) supérieure à celle de FI (14% de prolifération) à 100 µg/ml chacune (*Togola et al. 2007*).

Le mécanisme de la cicatrisation des plaies n'a pas été investigué pendant notre étude. Une hypothèse probable pour ce mécanisme est l'activation des composantes du système immunitaire; les polysaccharides ayant une structure du type rhamnogalacturonan auraient donc une propriété d'activation des composantes du système immunitaire plus prononcée que ceux du type Arabinogalactane *in vivo* autant qu'*in vitro*.

Le décocté total contenant peu de polysaccharides a montré une activité inférieure à celle des fractions, ce qui justifie le fractionnement de cet extrait mère afin d'isoler les composés actifs.

La crème Amustil à base d'Irgasan (nom chimique : trichlosan), un dérivé diphenyl ester du phénol, a démontré la guérison la plus rapide. L'Irgasan est largement utilisé en cosmétique comme antiseptique, et possède des propriétés bactériostatique et fongistatique.

La pommade A à base du décocté total a donné les mêmes nombres de jours de guérison que la plaie non traitée, cependant, elle a entraîné un rétrécissement de 50% de la plaie en 7 jours seulement, comparé aux pommades B (à base de FI) et C (à base de FII) et le beurre de karité (l'excipient) qui ont donné ce résultat en 8 jours. Quand aux plaies non traitées, elles se sont rétrécies de 50% en 12 jours.

Le beurre de karité a montré une guérison en 14 jours. Une propriété adoucissante sur la peau est connue pour ce produit, son activité pourrait être liée à cette propriété. Le fait que l'excipient ait eu une activité supérieure à l'extrait brut et la fraction I peuvent avoir plusieurs explications notamment la profondeur des plaies. Les plaies ont été induites manuellement, avec aucune possibilité de mesure de leur profondeur. Les plaies traitées avec le beurre de karité pouvaient être moins profondes.

Comparées à la plaie non traitée, celles traitées avec nos différentes pommades (B et C) ont guéris rapidement et ceci pourrait s'expliquer par la présence des polysaccharides existant dans nos différentes fractions.

Un autre objectif de ce travail était de déterminer l'activité protectrice de la muqueuse gastrique de la plante sur les plaies internes (ulcère gastrique). Pour ce test, nous avons utilisé les décoctés total et épuisé. Ceux-ci administrés par voie intra gastrique à des doses différentes semblent protéger la muqueuse gastrique contre les ulcérations provoquées par l'éthanol à 90% chez les rats.

Il a été remarqué que le décocté épuisé avec une protection de 75%, protège plus la muqueuse gastrique que le décocté total à la même dose (100mg/kg). Le décocté total à la dose de 200mg/kg induit une protection de 81,25%.

Le sucralfate utilisé comme médicament de référence à la dose de 1000mg/kg induit une protection de 87,50% très significative. Son effet est plus élevé que les extraits utilisés dans les mêmes conditions expérimentales.

Les polysaccharides peuvent avoir une propriété de protection de la muqueuse gastrique (pansement) notamment de par leur viscosité et aussi une propriété de guérison de la maladie proprement dite. C'est le cas de *Vernonia kotschyana* dont les polysaccharides protègent la muqueuse gastrique (Germano' et al. 1996) et cicatrisent les ulcères ((Nergård 2005). Pour les polysaccharides de cette plante il existe un lien entre la protection de la paroi gastrique et l'activité

antiulcéreuse. Dans notre étude, les polysaccharides de *O. celtidifolia* ont montré une activité de protection, qui serait une indication à la cicatrisation des ulcères. L'étude de l'activité des extraits administrés après provocation de l'ulcère chez les animaux est donc en perspective.

A ce point, les résultats obtenus apportent une justification à l'utilisation traditionnelle des extraits aqueux de *O.celtidifolia* dans le traitement des plaies externes et ouvrent la voie à d'autres études plus approfondies pour déceler le mécanisme de cette activité.

Quatrième partie : Conclusion perspective et recommandations

➤ Conclusion

L'une des missions du Département de Médecine Traditionnel est la recherche et le développement de phytomédicaments à base de plantes accessibles aux populations à faible revenu, et la valorisation des savoirs traditionnels locaux. C'est dans ce but que la vérification de l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Opilia celtidifolia* a été entreprise.

Le choix de la plante était justifié par son utilisation traditionnelle contre les plaies et ses propriétés immunomodulatrices démontrées par des études antérieures

Les études phytochimiques nous ont permis de connaître la composition chimique des feuilles de *O. celtidifolia* dont les principaux groupes sont les saponosides, les mucilages, les oses et holosides.

Les résultats de l'activité cicatrisante ont montré un potentiel de guérison rapide des plaies par les extraits polysaccharidiques des feuilles à 10% en formulation pommade avec du beurre de karité comme excipient sur les lapins. Les fractions I et II ont été plus actives que l'extrait brut.

Les résultats de l'activité de protection de la muqueuse gastrique chez les rats ont indiqué un potentiel de protection des extraits total et épuisé contre l'ulcère gastrique provoqué par l'éthanol.

Ces propriétés biologiques démontrées *in vivo*, essentiellement dues aux polysaccharides et accessoirement aux autres composants de la plante, peuvent confirmer l'utilisation traditionnelle de *O. celtidifolia* dans le traitement des plaies.

Cependant d'autres études sont nécessaires pour confirmer ces différentes activités.

Au terme de cette étude, nous espérons avoir participé à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à la réalisation des MTA efficaces et accessibles par tous dans le traitement des plaies aussi bien externes qu'internes.

En perspective, l'étude de l'activité cicatrisante d'extraits polysaccharidiques des feuilles de *Opilia celtidifolia* à des concentrations supérieures à celles utilisées dans ce travail est prévue. L'activité pourrait être dose dépendante de ce fait des concentrations élevées pourraient donner de meilleurs résultats. Ces études doivent inclure, si possible, une évaluation biologique et histologique de la cicatrisation qui en même temps pourrait fournir assez d'information sur le mécanisme de l'activité. Pour le cas de l'activité antiulcéreuse, le test de cicatrisation doit être préconisé pour évaluer l'activité de ces substances sur une plaie interne. Ensuite la toxicité générale et cutanée de ces extraits doit être étudiée.

➤ **Recommandations**

Au DMT

De poursuivre les investigations sur *Opilia celtidifolia* dans la prise en charge des plaies aussi bien externes qu'internes (ulcères gastroduodénaux) afin d'obtenir des MTA accessibles par tous.

En étudiant :

- d'autres concentrations de pommade
- le mécanisme de la cicatrisation
- d'autres excipients
- et cette fois-ci l'activité antiulcéreuse

Aux populations

- De ne pas négliger les plaies, aussi petites soient elles pour éviter le tétanos et d'éventuelles complications.
- D'utiliser judicieusement les plantes pour éviter la disparition de certaines espèces.

Références bibliographiques

1. Adjanooun, E.J., Ake Assi, L., Floret, J.J., Guindo, S., Koumaré, M., Ahyi, A.M.R., Raynal, J. (1973). Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, Edition ACCT. (Agence de coopération culturelle et technique), Paris, 291 p.
2. Ake Assi L., Abeye, J., Guinko, S., Giguet, R., Bangavou, Y. (1978). Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en Empire Centrafricain, Edition ACCT., Paris, 139 p
3. Aklikokou, A. K., Gbeassor, M. et Napo, K. (1995). Action anti-ulcéreuse de quelques plantes Médicinales. Pharm. Méd.trad.afr, Benin, 55-60 p.
4. Arfors K. E., Jonsson J. A., McKenzie F. N. (1970). A titanium rabbit ear chamber: assembly, insertion and results. *Microvasc Res.*; 2(4):516–518.
5. Barbosa, M. A., Granja, P. L., Barrias, C. C., Amaral, I. F. (2005). Polysaccharides as scaffolds for bone regeneration.vol 26; issue 3, 212-217p.
6. Berhaut, J. (1967). Flore du Sénégal (2^e édition) 485 p.
7. Bornand, C. (2005). caractéristique pharmaceutique des différents traitements destinés aux plaies chroniques. Pharmacie interjurassienne.
8. Boullard, B. (2001). Dictionnaire des plantes médicinales du monde (Réalités et Croyances). 660 p.
9. Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, Edition Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 915 p.
10. Burkill H. M. (1997). The Useful plants of West Tropical Africa. Volume 4. 2nd édition. Royal Botanic Garden, kew.
11. Calderon M, Lawrence WT, Banes AJ. Increased proliferation in keloid fibroblasts wounded in-vitro. *J Surg Res.* 1996;61(2):343–347.
12. Calvin, M. (1998) Cutaneous wound repair. *Wounds* 10, 12-32.
13. Chakurski, I., Matev, M. (1981). Treatment of duodenal ulcers and gastroduodenitis with an herbal combination of *Symphitum officinalis* and *Calendula officinalis* with and without antacids.Vutr Boles. 20(6):44-7.
14. Chambers, R. E., & Clamp J. R. (1971). An assessment of methanolysis and other factors used in the analysis of Carbohydrate-containing materials. *Biochemical Journal*, 25, 1009-1101

15. Chassaing C., Felix, G. (1996). Synthèse et étude de phases stationnaires chirales pour la CLHP (Chromatographie liquide à haute performance), à base de dérivés de polysaccharides 165p, 165 Réf. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1, Talence. France. 165p.
16. Choi, S-W., Son, B-W., Son, Y-S., Park, Y-I., Lee, S-K. & Chung, M-H. (2001). The Wound-healing effect of a glycoprotein fraction isolated from aloe vera. *Journal of Dermatology*; 145: 535-545.
17. Clark, R. A. F. (1985). Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations. I. *J Am Acad Dermatol*, 13 (5): 701-725.
18. Cohen, I. K., Diegelmann, R. F., & Crossland, M. C. (1994) Wound care and wound healing. In *Principles of Surgery* (Schwartz, S. I., Shires, G. T., Spencer, F. C., and Cowles Husser, W., Eds) pp. 279-303, McGraw-Hill, New-York.
19. Conférence de consensus *Helicobacter pylori* : Révision (1999). conclusions et recommandations révisées du groupe de travail. *Gastroenterol Clin Biol* 1999 ; 23 : C 95–104.
20. Coulibaly, A. (2001). Etude des plantes utilisées dans le traitement des plaies au Mali : polysaccharides de *Biophytum petersianum* Klotz (oxalidaceae). Thèse de pharmacie. Bamako. 101p.
21. Creemers T., Bosma, WJ., Boon, M. E. (2005) Enzymrijke honing: een natuurlijke remedie voor vaginale dysbalans. Jaarverslag van het Leids Cytologisch en Pathologisch laboratorium, 2005.
22. Creemers T., Bosma W. J., Honingzalf voor wondgenezing en huidproblemen bij dieren. *Dier en Arts* 2006: 21e jaargang nr.
23. Crespin, F., Olliver, E., Lavaud, C., Babadjamian, A., Faure, R., Debrauwer, L., Balansard, G., Boudon, G. (1993). Triterpenoid saponins from *opilia celtidifolia*, *Phytochemistry* ISSN 0031-9422, vol 33, numerous 3, pp 657-661
24. Cui, S.W. (2001). Polysaccharide Gums from Agricultural Products: Processing, Structures and Applications. CRC Press, Boca Raton, FL pp. 268.
25. Cui, S.W. (Ed). (2005). Food Carbohydrates: Chemical and Physical Properties and Applications. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 428.
26. Davidson J. M. (1998). Animal models for wound repair. *Arch Dermatol Res.* 290 (Suppl):S1–S11.
27. Davis S. C., Bouzari N. (2004). Development of antimicrobials for wound care: in-vitro and in-vivo assessments. *WOUNDS*. 16(11);344–347.
28. Diallo, D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros*

- abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae),
Thèse de Doctorat, Université de Lausanne, Suisse, 221 p.
29. Diallo, D., Sogn, C., Samaké, F. B., Paulsen, B. S., Michaelsen, T. E. & Keita, A. (2002) Wound healing plants in Mali, the Bamako region. An ethnobotanical survey and complement fixation of water extracts from selected plants. *Pharmaceutical Biology*, 40, 117-128.
 30. Diarra, I. I. (1991). Contribution a l'étude de quelques aspects des dermatoses en médecine traditionnelle au Mali. Thèse de pharmacie. Ecole nationale de Médecine et de Pharmacie. Bamako. 130p.
 31. Diarra, M., Konate, A., Traore, C., Soukho, A., Kamate, B., Diallo, AB., Maiga, M. Y. (2003). Les ulcères gastro-duodénaux en milieu rural. Mali Médical 2009. Tome XXIV, n°2. 1-3p.
 32. Doillon, C. J., Dunn, M. G., Berg, R. A. et Silver, F. H. (1985), *Collagen deposition during wound repair*. Scanning Elect Microsc. 11: 897-903.
 33. Druet, D., Comeau, L. & Zahra, J. P. Can. (1986). Structure de l'opigénine: triterpène pentacyclique isolé de *Opilia celtidifolia*. J. Chem. 64, 295
 34. Eckes B., Krieg T., Nusgens B. V., Lapiere C. M. (1995). In-vitro reconstituted skin as a tool for biology, pharmacology and therapy: a review. *Wound Repair Regen*. 3 (3):248–257.
 35. Eijk van W. en Groenhart O. Zoet na het zuur. Revamil honinggel, een goede remedie voor wonden. 2006; WCS Nieuws 22(4): 6-10
 36. Ernst E. (Ed). (1998). The Complete Book of Symptoms and Treatments, Element Books Limited, Angleterre. pp 953.
 37. Felley C. P., Corthesy-Theulaz. I. (2001). Favourable effect of an acidified milk (LC-1) on *Helicobacter pylori* gastritis in man. Eur J Gastroenterol Hepatol. 13(1):25-9.
 38. Fortin, V. (2005) Etude de régénération de la membrane basilaire au cours de la guérison de plaies cutanées humaines. Université Laval.
 39. Friman, G. (1987) A new hydrophobized wound dressing (Sorbact® 105) in the treatment of infected wounds. Current Therapeutic Research. 42 (1).
 40. Galati E. M., Pergolizzi, S. (2002). Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia Ficus indica* (L.) Mill. cladodes. J. Ethnopharmacol; 83(3):229-33.
 41. Gartner, L. P. & Hiatt, J. L., *Atlas d'histologie*. 2e ed. Bruxelles: De Boeck-Wesmael. 1992, 320 pages.
 42. Germano' M. P., De Pasquale R., Iauk, L., Galati, E. M., Keita, A., Sanogo, R. (1996) Antiulcer activity of *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. *Phytomedicine*. Vol. 2 (3), 229-233.

43. Gonda, R., Tomoda, M., Shimizu, N., Ohara, N., Takagi, H., Hoskins, S. (1994). Characterization of an acidic polysaccharide with immunological activities from the tuber of *Pinellia ternata*. *Biol. Pharm. Bull.* 17(19) 1549-1555.
44. Grinnell F. (1994). Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction. *J Cell Biol.* 124 (4):401-404.
45. Gupta, M.B., Nath, R. (1980). Anti-inflammatory and antipyretic activities of Beta sitostérol. *Planta Medica.* 39, 157-163.
46. Hase, K., Kadota, S., (1996). Hepatoprotective effects of traditional medianes, isolation of the active constituents from the seeds of *Celosia argentea*. *Phytotherapy research* (10): 387-392.
47. Hunt, T. K., Hopf, H. et Hussain, Z. (2000) *Physiology of wound healing*. *Adv Skin Wound Care.* 13 (2 Suppl): 6-11.
48. Ibara, J. R., Moukassa, B., Toua-Ngaporo, I. A. (1993). La pathologie digestive haute au Congo à propos de 2393 Endoscopies réalisées au CHU de Brazzaville. *Med Afrique Noire ;* 40 (2) : 97-100.
49. Inngjerdingen, K., Nergård, C. S., Diallo, D., Mounkoro, P.P. & Paulsen, B. S. (2004). An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, west Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 223 – 244.
50. Jarosz, M., Dzieniszewski, J. (1998). Effects of high dose vitamin C treatment on *Helicobacter pylori* infection and total vitamin C concentration in gastric juice. *Eur J Cancer Prev.* 7(6):449-54.
51. Kadjo, K., Ouattara, B., Sanogo, S., Diallo, A. D., Adom, A. H., Yangni-Angate, Y., Ouattara, D., Niamkey, E. K., Beda, Y. B. (1999) Aspects épidémiologiques des ulcères gastroduodénaux. *Med Afr Noire ;* 46 (2) : 99-102.
52. Kanitakis, J. (2002) Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol.* 12 (4): 390-401.
53. Kanitakis, J. (1998). Immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol.* (8): 539-547.
54. Kerharo, J. et Adams, J. G. (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques, Edition Vigot et frères, Paris, 1011 p.
55. Keita, A. (2005). Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastro-duodéal dans le District de Bamako : *Borassus oethiopum* Mart (Palmeae), *Sclerocarya birrea* (A.Rich.). Hochst. (Anacardiaceae) et *Ximenia americana* L. (Olacaceae). Thèse de Pharmacie. Bamako, 173 p.

56. Kositchaiwat, C., Kositchaiwat, S., Havanondha, J., Curcuma, L. L. (1993). In the treatment of gastric ulcer comparison to liquid antacid: a controlled clinical trial. *J Med Assoc Thai.* Nov;76(11):601-
57. Koudouvo, K. (2009). Contribution à la recherche sur les plantes médicinales à propriétés antipaludiques du Togo. Thèse de l'université de Lomé en Biologie de développement ; option Ethnobotanique et Pharmacologique des substances naturelles. 182p
58. Lebel L., Gerdin B. (1991). Sodium hyaluronate increases vascular ingrowth in the rabbit ear chamber. *Int J Exp Pathol.* 72(2):111–118.
59. Li, W., Dasgeb, B., Phillips, T., Li, Y., Chen, M., Garner, W. et Woodley, D. T., (2005) Wound-healing perspectives. *Dermatol Clin.*, 23 (2): 181-192.
60. Lindsay, D. T. (1996) The integument. In *Functional human anatomy* (Smith, J. M., Ed) pp. 345-375, Mosby-Year Book, St-Louis
61. Malgras, D. (1992). Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. 1 vol. , 480p. , agence de Coop. Cult. et techn, et Ed. Karthala, co-édit., Paris
62. Mariko, M. D. (1989). Etude de l'activité de " TERENIFOU" écorce de tronc de *Pteleopsis suberosa* engl. et diels (Combretaceae) dans le traitement des ulcères gastro-duodénaux, Thèse Med. Bamako, 51 p.
63. Martin, P. (1997) Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276 (5309): 75-81.
64. Mauray. S, Ficher. A-M. (1995): Activites anticoagulante et antithrombotique de polysaccharides sulfates. Université de Paris 13 ; Villetaneuse. France. 196p.
65. Michetti P, Dorta G. (1999). *Effect of whey-based culture supernatant of Lactobacillus acidophilus* (johnsonii) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion.*; 60:203-209.
66. Mignon, M. (1992). Gastro-Enterologie : Précis des maladies de l'appareil digestif, Edition Ellipses, Paris, 703 p.
67. Morgan, A. G, Pascoo, C., McAdam, W. A. (1985). Maintenance therapy: a two year comparison between Caved-S and cimetidine treatment in the prevention of symptomatic gastric ulcer recurrence. *Gut* Jun; 26 (6): 599-602.
68. Muller, B.M., Kraus, J., Franz, G. (1989). Chemical structure and biological activity of water soluble polysaccharide from *Cassia angustifolia* leaves. *Planta medica.* 55 (555-539).
69. Nergård, C. S., (2005). Immunomodulating pectic polymers, Thesis for the degree of Doctor Scientiarum, Departement of Pharmacognosy, School of Pharmacy, University of Oslo, Norway. Unipub AS, 80p.

70. Nditoyap Ndam, E.C., Tzeuton, C., Mbakop, A., Pouepene, J., Guemne, TA., Njoya, O., Tagnisartre, M., Ngu LJ. (1990)- Endoscopie digestive haute au Cameroun. *Med Afr Noire*; 37 : 453-456.
71. Organisation de l'Unité Africaine/Commission Scientifique Technique et de la Recherche (OUA/CSTR.) (1988). Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyses. Première Ed, Lagos, Nigeria, 206p, 254p.
72. Paletz, J. L., & Morris, S. F. (1996) Burn care: outpatient management. *Can. J. Diag.* 13, 64-75.
73. Paris, M., Hurabielle, M. (1986). Matière médicale. Tome 2. Edition Masson. Pp 70.
74. Paris, P. P., Moyse, H. (1965). Pharmacognosie générale, collection de précis de matière médicale, Edition Masson, Tome 1, 412p.
75. Park, E. H., Kahng, J. H., Paek E. A. (1998), Studies on the pharmacological action of cactus: identification of its anti-inflammatory effect. *Arch Pharm Res* Feb; 21(1):30-4
76. Phillips, G.O. & Williams, P.A. (2000). Hand Books of Hydrocolloids. CRC Press, Boca Raton, FL pp. 450.
77. Prucksunand, C., Indrasukhsri, B. (2001) Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn) on healing of peptic ulcer. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*; 32(1):208-15.
78. Rafatullah, S., Tariq, M., Mossa, J. S., Al-yahya, M. A., Al-said, M. S., Ageel, A. M. (1994). Anti-secretagogue, anti-ulcer and cytoprotective properties of *Acorus calamus* in rats, in revue *Fitoterapia*, Saudi Arabia, volume LXV, N° 1, 95 p.
79. Robbins, S. L., Cotran, R. S., and Kumar, V. (1994) Robbins pathologic basis of disease, W.B. Saunders, Philadelphia.
80. Roesler, J., Steinmuller, C., Kiderlen, A., Emmendorfer, A., Wagner, H., Lohman, M. M. (1991): Application of purified polysaccharide from cell cultures of the plant *Echinacea purpurea* to mice mediates protection against systemic infection with *Listeria monocytogenes* and *Candida albicans*. *Introduction Journal Immunopharmacological* 13(1) pp 27-32.
81. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D.K. (1986) Immunologie fondamentale et appliquée; office des publications universitaires. Editeur : Medsi.
82. Ross, I.A. (1999). Medicinal plants of the world Chemical constituents, Traditional and modern medicinal uses, Edition Human Press, Totowa, New Jersey, 415 p.
83. Safar, M., Safavian, A. (1985). Conduite Thérapeutique dans les principales affections du tube digestif. Guide pratique de thérapeutique, Edition Ellipses, Paris, tome.1, 407 p.

84. Samaké, B. F. (1999). Etude des plantes utilisées dans le traitement des plaies : *polysaccharides et leur activité sur le complément*. Thèse de Pharmacie. Bamako. 139p.
85. Sangaré, D. (2004). Etude de la prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de santé de Kendie (Bandiagara) et de Finkolo (Sikasso). Thèse de pharmacie. Bamako. 105p.
86. Schacht, E.; Van den bulcke, An.; Delaey, B.; Draye, J.P. (1998). Nouveaux médicaments basés sur des polymères composés de gélatine à modification methacrylamide.
87. Shihata, I. M., El-Gendi, A. Y. I., Abd El-Malik, M. M. (1977). Phamacochemical studies on saponin fraction of *Opilia celtidifolia*. *Planta Medica*, 31: 60-67.
88. Smith, K. L. & Dean, S. J (1998). Tissue repair of the epidermis and dermis. *J Hand Ther:* 95-104.
89. Stevens, A., & Lowe, J. (1995) *Pathology*, Times Mirror International, London.
90. Sun, X. B., Matsumoto, T., Yamada, H. (1992): Purification of an antiulcer polysaccharide from the leaves of *Panax gingseng*. *Planta Med.* 58 445-448.
91. Togola, A., Diallo, D., Dembele, S., Barsett, H., Paulsen, B.S., (2005). Ethnopharmacological survey of different uses of seven medicinal plants from Mali, (West Africa) in the regions Doila, Kolokani and Siby. *Journal of Ethnobiology and ethnomedicine [electronic resource]* 1, 7.
92. Togola, A., Inngjerdingen, M., Diallo, D., Barsett, H., Rolstad, B., Michaelsen, T. E., Paulsen, B. S., (2007). Polysaccharides with complement fixing and macrophage stimulation activity from *Opilia celtidifolia*, isolation and partial characterization. *Journal of Ethnopharmacology* 115, 423-431.
93. Tortora, G. J., Grabowski, S. R. & Parent, J. (1994). *Principes d'anatomie et de physiologie*. Anjou: Centre Éducatif et Culturel inc., 1203 pages.
94. Tragni, E., Galli, C. L., Tubura, A., Delnegro, P., Dello Loggia, R. (1988) Antiinflammatory activity of *Echinacea angustifolia* separated on the basis of molecular weight. *Université de Milan. Italia. Vol 20; 87-90pp.*
95. Wadström T. (1985). Hydrophobized wound dressings in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* infections in the young pig. *Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B*, 93, 359-363.
96. Warrand, J. (2006). 1. *Food Technol. Biotechnol.* 44:355-370.
97. Williamson, Elizabeth M., Okpako, David T., Evans, Fred J. (1996). Selection, preparation and pharmacological Evaluation of plant Materiel (pharmacological methods in phytotherapy Research). Edition Wiley, volume 1, 25. 46 228 p.

98. Winter, G. D. (1972) Epidermal regeneration studied in domestic pig. In Epidermal Wound Healing (Maibach, H. I., and Rovee, D. T., Eds) pp. 71-113, Year Book Medical Publishing, Chicago.
99. Witte, M. B. & Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. Surg Clin North Am., 77 (3): 509-528.
100. Wysocki, A. B. (1999). Skin anatomy, physiology, and pathophysiology. Nurs Clin North Am., 34 (4): 777-797.
101. Yamada, H. (1994). Pectic polysaccharides from Chinese herbs: structure and biological activity. Carbohydrate Polymers, 25, 269-276.
102. Yamada H, Kiyohara, H. (1999). Complement-activating polysaccharides from medicinal herbs. In Immunomodulatory agents from plants. H. Wagner, Birkhäuser, Basel; 161-202.
103. Passeportsante.net. (2005). [http:// www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/riche.as?doc=ulcere gastroduodenal pm](http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/riche.as?doc=ulcere_gastroduodenal_pm)
104. ZipcodeZoo.com. (2008). [http:// zipcodezoo.com/plants/O/Opilia_celtidifolia/](http://zipcodezoo.com/plants/O/Opilia_celtidifolia/).

Annexes

Composition des réactifs

➤ **Réactif pour les flavonoïdes :**

Solution éthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 5%

➤ **Réactif pour les tanins :**

Solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 10% dans le méthanol à 50%

➤ **Réactif de Baljet**

Acide picrique.....1 g

Ethanol à 50° alcoolique q s p.....100 ml

➤ **Réactif de Kedde**

Acide dinitro 3,5 benzoïque.....1 g

Ethanol à 95 ° alcoolique q s p.....100 ml

➤ **Réactif de Dragendorff**

Nitrate de bismuth pulvérisé.....20,80 g

Iode.....38,10 g

Iodure de sodium anhydre.....200 g

Eau distillée q s p.....1000 ml

Agiter pendant 30 mn

➤ **Réactif de Fehling**

Solution A :

CuSO_4 35 g

Eau distillée.....500 ml

H_2SO_4 5 ml

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

Solution B :

Sel de Seignette.....150 g

Eau distillée.....500 ml

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

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

➤ **Réactif de Godin**

Solution A :

Vanilline	1 g
Ethanol à 95° alcoolique.....	1000 ml

Solution B :

Acide perchlorique.....	3 ml
Eau distillée.....	100 ml

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

➤ **Réactif de Guignard (Papier picrosodé)**

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

➤ **Réactif de Mayer**

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

➤ **Réactif de Raymond - Marthoud**

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

➤ **Réactif à l'Anisaldéhyde**

Anisaldéhyde.....	0,5ml
Acide acétique glacial.....	20ml
Méthanol.....	85ml
Acide sulfurique.....	10ml

Fiche signalétique et Résumé

Fiche signalétique

Auteur : Korotimi Dada Amadou Karabinta

Titre: Propriété cicatrisante des feuilles de *Opilia celtidifolia* (Guill. et Perr.) Endl. ex Walp. (Opiliaceae).

Année universitaire : 2009-2010

Pays d'origine : Mali

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako

Secteur d'intérêt : Pharmacognosie, Recherche en Médecine Traditionnelle

E-mail : dame_dadis@yahoo.fr

Téléphone : 79027671

Résumé

Notre étude a porté sur l'activité cicatrisante des feuilles de *Opilia celtidifolia* utilisées en Médecine Traditionnelle contre les plaies.

Le screening phytochimique réalisé sur la poudre de feuilles, a mis en évidence différents groupes chimiques dont certains ont une importance reconnue dans le domaine de la Médecine Traditionnelle.

Les pommades de 10% à base des fractions polysaccharidiques de type Arabinogalactanes et Rhamnogalacturonans ont montré une activité cicatrisante. La plus active a été la pommade à base de la fraction Rhamnogalacturonans avec 12 jours de traitement sur les plaies de types incisionnels.

L'activité de protection de la muqueuse gastrique a montré d'excellents résultats avec les extraits aqueux à différentes doses contre l'ulcère provoqué par l'éthanol.

MOTS-CLES: Médecine Traditionnelle - *Opilia celtidifolia* – Polysaccharides – Plaies – Cicatrisant - Protection.

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 instruite 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 couverte d'opprobres et méprisée de mes confrères si j'y manque.*

Je le jure